

Ioannis Sarris

**Organización morfológica y variación
del esqueleto axial de víboras**

Una aproximación morfométrica a la homología seriada

Departamento de Biología

Unidad de Paleontología

Universidad Autónoma de Madrid

Organización morfológica y variación del esqueleto axial de víboras:

una aproximación morfométrica a la homología seriada

TESIS DOCTORAL

Ioannis Sarris

Departamento de Biología

Unidad de Paleontología

Universidad Autónoma de Madrid

Madrid, Marzo 2013

Organización morfológica y variación del esqueleto axial de víboras:

una aproximación morfométrica a la homología seriada

Memoria presentada para optar el Grado de Doctor en Ciencias Biológicas por

Ioannis Sarris

Dirigida por

Dra. Ángela Delgado Buscalioni

Departamento de Biología

Unidad de Paleontología

Universidad Autónoma de Madrid

Madrid, Marzo 2013

a todo lo que ha caído en el olvido

Άραγε θα θυμάται κάποιος τ' όνομά μας
της ζωής μας τα εξαίσια φεγγάρια
τα πάθη μας, τις λύπες, τα δεινά μας,
Άραγε υπήρξαμε ποτέ;
Στα όνειρά μας!

(Π. Ροδόστογλου)

Agradecimientos

Capítulo I	<i>página</i>
Introducción.....	1
1. Breve contexto histórico de las aproximaciones del estudio de la forma	1
A. Los albores del pensamiento científico	1
B. La morfología en su contexto histórico	2
C. La cuantificación de la forma: morfometría	4
2. Homología seriada	5
A. Lo seriado dentro del debate sobre homología	5
B. La dialéctica de la regionalización axial	7
C. El método comparativo en las estructuras seriadas	9
i. Problemática	9
ii. Elemento-a-elemento: aproximación reduccionista	10
iii. Módulos: un análisis comparativo holista	10
3. Evolución y organización del esqueleto axial de las serpientes	11
A. La pérdida de las extremidades en los ofidios	11
i. Evolución de los caracteres en las serpientes	11

ii. Organización morfológica asociada a la pérdida de las extremidades	13
B. Genética del desarrollo	15
i. El número de las vértebras	15
ii. La identidad de las vértebras	16
4. Las víboras eurasiáticas: sujeto del estudio	17
A. Taxonomía	17
B. Anatomía vertebral	18
5. Objetivos	20

Capítulo II

Material y Métodos.....	23
1. Material	25
2. Métodos	28
A. Morfometría Geométrica	28
i. Adquisición de datos: <i>landmarks</i>	29
ii. Superposición	29
iii. Visualización	34
B. Análisis de datos	34
i. Análisis multivariante	34
a. Análisis de componentes principales (PCA)	34
b. Escalado multidimensional (MDS)	35
ii. Modelos predictivos	36
a. Modelos aditivos generalizados (GAM)	36
b. Análisis de regresión	37
iii. Programas informáticos	37

3. Protocolo metodológico empleado	38
------------------------------------	----

Capítulo III

La influencia del tamaño en el esqueleto axial de las víboras.....41

<u>Resultados</u>	43
-------------------	----

1. El patrón seriado del tamaño vertebral	43
---	----

2. La variación del tamaño entre especímenes	45
--	----

A. Pleomerismo: cómo el número de vértebras influye el tamaño corporal	45
--	----

B. La influencia del número de vértebras al tamaño vertebral	47
--	----

<u>Discusión</u>	49
------------------	----

1. La variación intracolumnar del tamaño vertebral	49
--	----

A. Patrón seriado del tamaño vertebral	49
--	----

B. La contribución del crecimiento diferencial	51
--	----

2. El tamaño vertebral como identificador	52
---	----

3. La influencia del número de vértebras	53
--	----

A. Número y tamaño de vértebras	53
---------------------------------	----

B. Modelo construccional de la región precloacal en las víboras	54
---	----

C. El fenómeno del pleomerismo en las víboras	55
---	----

Capítulo IV

La variabilidad de la geometría vertebral en las víboras.....57

<u>Resultados</u>	58
-------------------	----

1. Superposición	58
------------------	----

2. Análisis de Componentes Principales (PCA)	58
--	----

A. Dimensionalidad del morfoespacio	58
-------------------------------------	----

B. Interpretación física	60
C. Distribución de las vértebras en el morfoespacio	63
D. Patrón seriado de la geometría vertebral	64
E. Distribución de las geometrías vertebrales típicas de los especímenes	67
3. La influencia del tamaño vertebral a la geometría vertebral	68
<u>Discusión</u>	71
1. La variabilidad de las trayectorias	71
A. El efecto herradura en las estructuras seriadas	71
B. El doble papel del PC1: variación intra- e interindividual	72
2. Influencia de la posición al diseño vertebral	73
A. Patrón seriado de la geometría vertebral	73
B. La interpretación biomecánica	76
3. Relación entre tamaño y geometría: restricciones construccionales	78

Capítulo V

Análisis comparativo de los patrones seriados

de la geometría vertebral en las víboras eurasiáticas.....81

<u>Método</u>	82
1. Adquisición de las trayectorias	82
A. Ajuste de modelos a los datos	82
B. Igualación del número de elementos en las series	82
2. Procesado de los datos	84
A. Superposición de trayectorias	84
B. Residuos de trayectorias	84
3. Espacio de trayectorias	86

A. Variabilidad de trayectorias	86
B. Visualización	86
<u>Resultados</u>	88
1. El espacio de trayectorias	88
A. La dimensionalidad del espacio	88
B. La variabilidad de las trayectorias	89
2. Interpretación de las dimensiones del espacio de trayectorias	90
3. La distribución de las trayectorias	95
<u>Discusión</u>	96
1. Un nuevo método para la comparación holista de patrones seriados	96
A. La digitalización de las trayectorias	96
B. La superposición de trayectorias	97
C. Interpretación de las dimensiones del espacio de trayectorias	99
D. ¿Por qué un nuevo protocolo?	100
2. La columna vertebral de las víboras eurasiáticas	101

Capítulo VI

Subdivisión en la columna vertebral de las víboras.....103

<u>Método</u>	103
<u>Resultados</u>	104
1. El patrón general de las víboras	104
2. Diferenciación entre grupos	104
<u>Discusión</u>	107
1. El debate acerca de la falta de regionalización en los ofidios	107
A. La identidad de las vértebras	107

B. El proceso evolutivo de homogeneización	108
2. La contribución cuantitativa al debate de la regionalización	108
A. Relación entre variación geométrica y regionalización	108
B. La subdivisión cuantitativa de la región precloacal	109

Capítulo VII

Síntesis - Conclusiones.....	111
-------------------------------------	------------

Capítulo VIII

Bibliografía.....	115
--------------------------	------------

Agradecimientos

Parece una tarea imposible evaluar la contribución de cada una persona y descartar todo lo periférico. Todos con su presencia o ausencia han contribuido para realizar esta Tesis.

En primer lugar me gustaría agradecer a mi directora Ángela por ser capaz de dirigir lo incontrolable, inyectar una buena dosis de coherencia a la reflexión espontánea y un punto de vista que trasciende la simplificación científica. A Jesus Marugán por ser tan morfómetra.

I would like to thank Olivier Rieppel for sharing with me his useful vision about homology and philosophy of science. Also, I am grateful to Paul O'Higgins for his contribution to the development of the methodological part of my Thesis.

La obtención del material analizado se debe a los préstamos realizados por Jose Enrique Gonzalez Fernandez (MNCN) y Zbigniew Szyndlar (ZZSiD).

Gracias a todos los paleontólogos de la UAM – Hoyerros, Bea, Hugo, Chicho, Aitor, Alvaro y Elena por trascender el ámbito científico. Además, me gustaría agradecer a los *reduccionistas* de la casa, Nacho, Miguel, Turi, Maria y Roberto por su apoyo continuo. También a los antropófagos de poblaciones pasadas por *Su-Realismo*.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου. Χωρίς την υποστήριξη τους θα μου ήταν αδύνατο να φτάσω εδώ που έφτασα. Ακόμα, θα θελα να ευχαριστήσω τον Γιώργο, τον Κοσμα, τον Παναγιώτη, τον Κώστα τον Krabathor, το Γιάννη, τον Μάκη, την Χρυσά, την Αντουανετα, τον Μαρκο, τον Σιμο και τον Κωστα για όλα αυτά τα χρόνια φιλίας.

Gracias Isa por estar aquí y hacerlo posible.

La investigación que ha dado lugar a esta tesis fue financiada por la beca FPU (ref. AP2007-00904) por el gobierno de España, el proyecto de investigación CGL2009-11838 (Ministerio de Ciencia e Innovación) y la financiación del INEM.

Ioannis Sarris

Madrid, 10 de Marzo de 2013

Capítulo I

Introducción

*The oldest and strongest emotion of mankind is fear,
and the oldest and strongest kind of fear is fear of the unknown.*

(H.P. Lovecraft, Supernatural Horror in Literature)

1. Breve contexto histórico de las aproximaciones del estudio de la forma

A. Los albores del pensamiento científico

Epícuro alaba el conocimiento de la naturaleza por su acción purificadora sobre el *psique*. Pues, sólo la comprensión del orden natural nos puede librar del miedo. Este último sentimiento hacia lo desconocido es el que conduce a los humanos a adoptar conductas supersticiosas, desarrollar discursos mitológicos y también creencias religiosas. No obstante, Epícuro es también el principal impulsor de la filosofía natural o actualmente el conocimiento científico.

Históricamente hay un cambio en lo concerniente a la manera en que el ser humano se enfrenta a lo desconocido. Se suele emplear un discurso sensacionalista a la hora de describir el paso del *mitos* al *logos* como un momento en la historia de la humanidad único. La realidad es que, aunque esta transición tuvo lugar en un intervalo temporal muy corto, la influencia del *mitos* sigue viva hoy. Una influencia que ni siquiera la ciencia puede librarse.

El pensamiento científico empieza con los *fisiologoi* jónicos, alrededor del séptimo siglo antes de nuestra era, unos filósofos profundamente influenciados de la precedente filosofía oriental que intentaron explicar la naturaleza desde un punto de vista racional y no supersticioso. A partir de ese momento la filosofía clásica griega gira alrededor de dos problemas. Por un lado se encuentra el *uno* y el *múltiple* y por otro lado el *ser* y el *devenir*. Nociones que están estrechamente vinculadas con la superioridad de la razón o la observación. Dentro de este contexto se desarrollaron filosofías muy diversas, desde el desprecio de la observación respaldado por Parménides, Pitágoras o Platón hasta pensadores más empíricos como Empédocles o Aristóteles (Figura 1.1).

Una figura destacada en este contexto histórico-cultural es Demócrito, en cuyo pensamiento se pueden encontrar muchas coincidencias con el método científico actual. Su



Figura 1.1: Empédocles en su filosofía natural, desarrolla una visión de la historia de los organismos basada en una teoría de combinaciones de módulos al azar. De estas combinaciones solamente las viables consiguieron llegar hasta nuestros días.

aportación al pensamiento contemporáneo radica en explicar el devenir de los múltiples procesos naturales observados basándose en el movimiento de los átomos incorruptibles (partículas inspiradas por el ser único, *átomo* y eterno de Parménides). Esta dosología de empirismo y razón hacen del pensador de Abdera una persona de una relevancia significativa para la evolución del pensamiento científico.

B. La morfología en su contexto histórico

Mientras que la contribución de Demócrito es principalmente sobre física, la biología goza de la presencia de Aristóteles. Con el Estagirita empieza la reflexión sistemática acerca de la forma orgánica. Durante la historia de esta última se destacan dos episodios muy importantes que coinciden con los dos pensadores más influyentes y sus seguidores. Por un lado, está “la forma orgánica como forma sustancial”, desarrollada por Aristóteles y por otro lado “la forma orgánica

como forma ideal” por Kant (Nuño de la Rosa, 2005).

Aunque Aristóteles (384-322 a.n.e.) se recuerda más por su obra metafísica, usando como criterios su dedicación y la plétora de tratados sería más justo definirle (si lo tenemos que hacer) como el primer biólogo. El filósofo estagirita se puede considerar como el padre (si tiene que haber uno) de la anatomía comparada (Russell, 1982; p.2). Como biólogo hizo el primer intento de clasificar los animales en grupos inmutables caracterizados por una *unidad de plan*. Esta forma no se puede dissociar de la función y depende directamente de ella. Así que el fin de la forma es la función, una relación no temporal sino lógica. Los seguidores del pensamiento aristotélico son principalmente Galeno y Linneo.

Immanuel Kant (1724-1804) marca un cambio cualitativo en lo que se refiere a la reflexión acerca de la forma orgánica. Pues su pensamiento dio lugar al desarrollo de la escuela de la *morfología trascendentalista*, cuyo auge tiene lugar durante el siglo XIX. En este contexto de la forma ideal se busca el fundamento superior que pueda servir como ley para producir los organismos.



Georges Cuvier (1769-1832) fue muy influenciado por la obra del Estagirita y por Kant. Desarrolló una anatomía más bien mecanicista, considerando que las partes del organismo debían estar coordinadas de tal manera que se cumplan las condiciones de existencia que es principalmente la armonía funcional del organismo (Russell, 1982; p.33-36; Panchen, 2001). De esta manera destacan principalmente dos nociones importantes: la superioridad de la función frente a la estructura y segundo la correlación entre partes (algo que se puede también encontrar en la obra de Aristóteles).

El nombre de Johann Wolfgang von Goethe (1749-1832) está inevitablemente vinculado con el romanticismo. Un *homo universalis* que aportó a la morfología la posibilidad de formar una disciplina independiente. Así que es el primero que introdujo y definió el término de *morfología* como “*consideración de la forma, tanto en sus partes como en su conjunto, de sus armonías y disonancias, prescindiendo de cualquier otro aspecto*” (Goethe, 2007; p.112). Alejado de una visión mecanicista, considera que puede haber una ciencia de biología, cuyo estudio son las leyes internas de la organización biológica. La expresión fenomenológica de estas leyes es el *morfotipo* y el *Bauplan*, es decir, la organización estructural del organismo que tiene como fin la adaptación (Lenoir, 1987).

Étienne Geoffroy Saint-Hilaire (1772-1844), contemporáneo de Georges Cuvier, fue defensor de la morfología trascendental. La diferencia principal consiste en la posición inferior que ocupa la función en el último movimiento. Así, Geoffroy centra su estudio en trazar relaciones de homología entre partes de distintos animales basándose en el *principio de las conexiones*, que fue desarrollado por él (Panchen, 2001).

La escuela trascendentalista británica cuenta con Richard Owen (1804-1892), una figura crucial dentro de la historia de la anatomía comparada. Su aportación más importante es la definición de la *homología* en su obra de referencia *On the Archetypes and Homologies* (1848). Prácticamente es el estudioso que puso a tela de juicio esta noción que dio pie a un debate largo que llega hasta hoy. Owen define tres tipos de homología, a saber, la *especial*, la *general* y la *seriada*. Además, marca la diferencia entre lo que es homología y lo que es *analogía*. Otra aportación, desde luego muy controvertida, es el esquema cognitivo que se define como *arquetipo* de los organismos vertebrados. Este esquema reúne todo lo que es constante en todos los esqueletos y que toma la composición de una serie de segmentos repetitivos cuyo grado diferencial de variación morfológica es el resultado de dos fuerzas opuestas. Por un lado tenemos la *vegetativa* que tiende a repetir segmentos iguales y por otro lado la *teleológica* que los moldea según la función que tienen que ejercer. Aunque el arquetipo de Richard Owen partió desde una base material se sometió en una platonización-cristianización por presiones sociales (Rupke, 1993) (Figura 1.2).

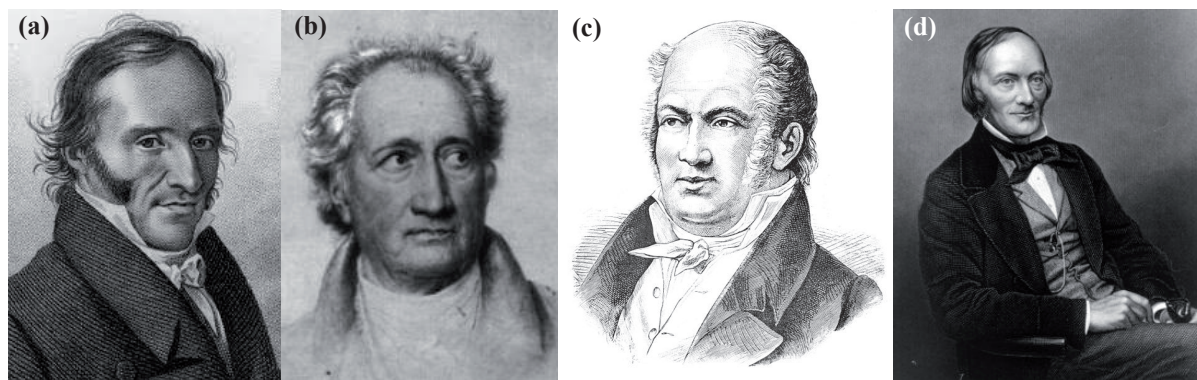


Figura 1.2: Los morfólogos trascendentalistas: (a) Johann Wolfgang von Goethe (1749-1832), (b) Georges Cuvier (1769-1832), (c) Étienne Geoffroy Saint-Hilaire (1772-1844) y (d) Richard Owen (1804-1892).

C. La cuantificación de la forma: la morfometría

Durante el siglo XX hasta hoy en día se observa un enorme crecimiento de la estadística y generalmente de los estudios cuantitativos (Sokal y Rohlf, 1995; p.5). En este contexto histórico la morfología no podía seguir exclusivamente cualitativa, así que se empezó a cuantificar la forma a una gran escala. Mientras que antes la cuantificación de la forma orgánica se encuentra en eventos esporádicos durante este periodo se sometió a un proceso de objetivación.

Los orígenes de la cuantificación de la forma orgánica se pueden rastrear hasta el Egipto con el uso de las proporciones para representar fielmente los cuerpos humanos (Slice, 2005). El uso de las proporciones para los artes plásticos, y en concreto para las estatuas de humanos, fue central en el pensamiento platónico. Su uso se puede ver también en la obra *Vier Bücher von Menschlicher Proportions* (1524) del artista Albrecht Dürer (Rasskin-Gutman, 1995; p.40).

El estudio sistemático de la forma cuantificada, que principalmente se ve en antropología, empieza a finales del siglo XIX. Este es el comienzo de la actualmente denominada como *morfometría tradicional*. Como tal se entiende el uso de los métodos desarrollados dentro del ámbito de análisis estadístico multivariante para muestras cuyas variables son morfológicas (Adams *et al.*, 2004). Estas últimas se refieren principalmente a distancias lineales, aunque ángulos y proporciones no son raros. Aunque esta aproximación cuantitativa ha permitido históricamente la introducción de la morfología dentro de un ámbito que se considera objetivo, sin embargo no está libre de problemas metodológicos. Como más importantes de estos últimos se consideran la corrección del tamaño, la distribución relativa de las medidas en el espacio físico y la homología de las distancias lineales (Adams *et al.*, 2004; Slice, 2005). El reconocimiento de esta problemática genera las condiciones necesarias epistemológicas para pasar a la aproximación geométrica de la morfometría.



Décadas antes de estas circunstancias se publica el libro *Growth and Form* de D'Arcy Wentworth Thomson (1992). Esta obra se considera el primer intento hacia la cuantificación de la variabilidad de la forma orgánica mediante mallas de transformación (Figura 1.3). Sin embargo, el marco matemático que hizo posible esta aproximación, desde luego más artística e intuitiva que científica en su momento, llegó a finales del siglo XX tras el auge de la morfometría tradicional que se ve a partir de las décadas de los sesenta y setenta. Una condición necesaria para destacar e intentar superar las anomalías metodológicas.

El hecho que revolucionó la manera de tratar cuantitativamente la morfología es la definición de la *geometría (shape)* por Kendall (1984). De esta manera los objetos orgánicos quedan libres de tamaño permitiendo el paso a la *morfometría geométrica*. Así se denomina el conjunto de herramientas que permite el análisis comparativo de los parámetros geométricos de la forma orgánica. Los datos son conjuntos de coordenadas landmarks que abstraen la morfología de un objeto. La variabilidad de geometrías se estudia mediante los análisis multivariantes cuyos resultados se pueden visualizar como deformaciones en el espacio físico (Slice, 2007).

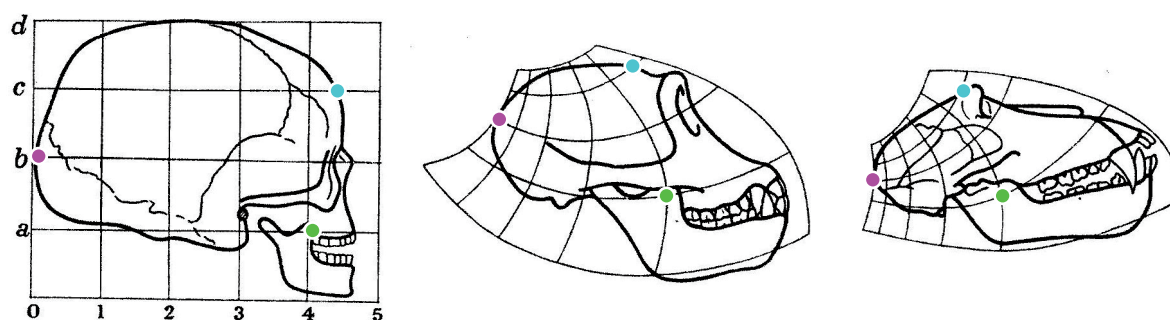


Figura 1.3: La transformación de un cráneo humano a un cráneo de babuino y chimpancé. El uso de la malla de transformación se deforma de tal manera que sus puntos de intersección correspondan a puntos estructuralmente homólogos (los puntos de mismo color) entre las tres formas (modificado de Thomson, 1992).

2. Homología seriada

A. Lo seriado dentro del debate sobre homología

Primera aportación al fenómeno de la homología seriada se realiza por Johann Wolfgang von Goethe en su tratado *Versuch die Metamorphose der Pflanzen zu erklären* (1790), donde interpreta todas las partes de las plantas como variaciones del mismo diseño básico.

Richard Owen en su libro *On the Archetypes and Homologies* (1848; p.7) introduce el término de homología definiendola como “*the same organ in different animals under every variety of form and function*”. En el mismo, trata también lo que es la homología seriada afirmando que es “*the relation of the elements that are part of the essentially similar segments that are serially arranged along the longitude of the type of the vertebrate skeleton*”. La noción de la homología seriada es crucial en el pensamiento anatomista oweniano, ya que el arquetipo se

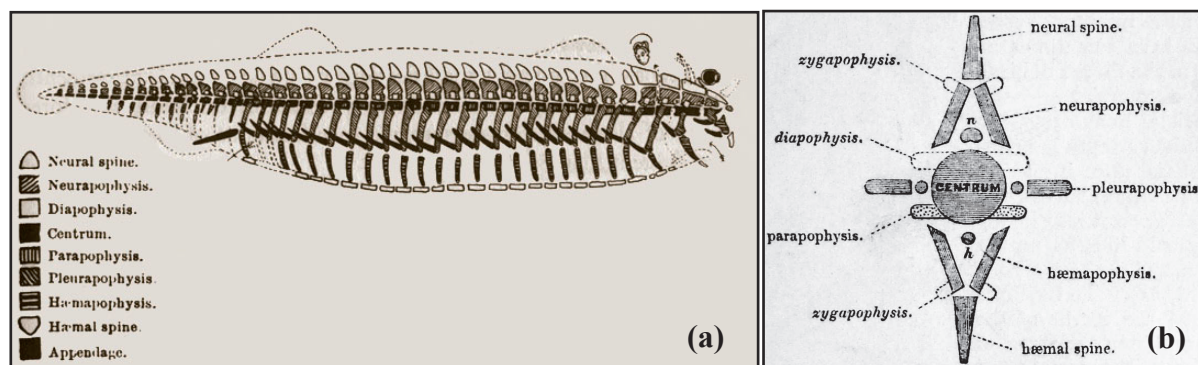


Figura 1.4: La forma idealizada en la morfología transcendental tiene como propósito a reunir los fundamentos de la organización que se encuentra en los animales. El Arquetipo de Owen (a) sirve esta tarea fenomenológica como representación de las partes constantes de los vertebrados. Su característica principal es la repetición de segmentos compuestos como las vértebras (b) (tomado por Owen, 1848).

basó en series de segmentos repetitivos. Según Owen, dichos segmentos están compuestos por elementos que varían exceptuando la vértebra cuyo diseño principal se mantiene (Figura 1.4).

Sin embargo, el gran cambio de la definición de homología no llegó antes de la publicación del *Origen de las Especies* (1859) de Darwin. Este punto de inflexión en el pensamiento biológico marca el paso de una noción idealista de este término a su percepción basada en la historia evolutiva (o relación de orden) de los organismos, acercándose a una aproximación empiricista. No obstante, una noción de homología que se basa en la evolución cuyas unidades causales se consideran las especies deja al lado la necesidad de la definición de la homología seriada. Resultado de eso es la poca atención que ha recibido este fenómeno el último siglo (Filler, 1986; p.280).

Dentro del nuevo paradigma biológico se ha dado mucho más peso a los dos tipos de homología denominados como histórico y biológico respectivamente. Dentro de este contexto hay un debate general acerca de la homología como correspondencia de elementos y las condiciones que se deben cumplir para caracterizar unas estructuras como homólogas. Desarrollando los puntos más relevantes de este debate podemos situar la homología seriada dentro de lo que se considera como homología.

La homología no es una propiedad intrínseca sino una relación entre elementos de organismos (Patterson, 1982; Rieppel, 2004). La afirmación acerca de la homología entre dos elementos no es verdadera o falsa, sino presenta grados de veracidad. Por eso, es una tarea necesaria el uso de una frase condicional. De esta manera se construyen jerarquías de relaciones homologas de distintos grados de inclusión (Bock, 1973; Patterson, 1982). Por ejemplo, en el caso de las vértebras, dos vértebras torácicas tienen un grado de homología más alto que entre una torácica y una cervical. Pues, mientras que las primeras se caracterizan como homologas tanto por ser de la misma región como de la misma columna vertebral, las últimas lo son sólo por ser de la misma columna vertebral.



Otro requisito para establecer una relación de homología es que sean los elementos, a los que se refiere, unidades modulares (Wagner, 1996; Rieppel, 2007). Buenos candidatos para ser tales unidades son los módulos de desarrollo (Minelli, 1998), es decir las partes de comparten las mismas restricciones a lo largo del desarrollo (Wagner, 1989). Sin embargo, hay elementos que son homólogos pero no surgen por los mismos mecanismos de desarrollo (Hall, 1995). Por eso, el desarrollo no es una condición ni suficiente ni necesaria para la homología pero la puede rastrear (Rieppel, 2007).

Esta aproximación biológica es una manifestación de la continuidad de información propuesta como requisito para establecer relaciones de homología propuesta por Roth (1991). En este contexto dos elementos de una estructura seriada, como las vértebras de la misma columna vertebral, comparten el mismo programa subyacente de desarrollo. Sin embargo, este tipo de homología no es fundamentalmente distinta de la denominada como histórica, pues dichos elementos se pueden rastrear en mismo elemento del ancestro (Ghiselin, 1976). Como ejemplo aquí tenemos las vértebras de las serpientes y los mecanismos que llevaron a un incremento importante de su número.

Aparentemente la homología seriada es la manera más económica de generar novedades en el organismo sin aumentar su complejidad. Pues la generación *ex nihilo* de un módulo parece mucho menos probable que la duplicación y divergencia de módulos que ya existen (Raff, 1996; p.337-338). Sin embargo dicha divergencia, al menos en el caso de las vértebras, se realiza dentro de unos límites impuestos por la limitación construccional de la serie, en cuanto que sus elementos adyacentes han de acoplarse. Por eso los elementos de una estructura seriada están reconocidas como variaciones del mismo tema estructural (Hall, 1995).

B. La dialéctica de la regionalización axial

El filósofo Friedrich Engels en su libro *Dialéctica de la Naturaleza*, desarrolla las tres leyes de la dialéctica (Engels, 1979; pp.49):

1. La ley de transformación de la cantidad en calidad y viceversa,
2. La ley de la penetración de los contrarios
3. La ley de la negación de la negación.

La formulación de estas leyes no se realiza por primera vez por Engels, sino se encuentran anteriormente en la obra de Hegel. Sin embargo, Hegel había desarrollado una dialéctica idealista, un sistema que se tomó por Karl Marx y Friedrich Engels y se le dio la vuelta. En concreto, como nos dice el mismo Engels, el *Materialismo Dialéctico* no es lo contrario a la historia y la naturaleza (como afirma el idealismo) sino parte de esas dos (Engels, 1979; pp.50).



El materialismo dialéctico es un sistema de pensamiento que se puede aplicar tanto a la naturaleza como en la sociedad. Su influencia en el pensamiento contemporáneo (sobre todo de la primera ley de la dialéctica) es decisiva, aunque ignorada.

En el ámbito de la historia de la ciencia, la primera ley de la dialéctica, subyace en la *teoría de las revoluciones científicas*. Esta teoría propuesta por Thomas Kuhn (2006) reconoce la presencia de largos periodos en el pensamiento científico durante los cuales la metodología se mantiene incuestionable, periodos que se caracterizan por un único paradigma científico. Sin embargo a lo largo de estos periodos se acumulan anomalías que no encajan en el paradigma presente que tienen como resultado una revolución científica. Este punto de inflexión se refiere a un cambio de paradigma relativamente abrupto. Tales episodios se pueden considerar la *Teoría de la Relatividad* para la física y la *Teoría de la Selección Natural* para la biología.

En el ámbito de las ciencias nos encontramos con la *Teoría de las Catástrofes*. Un método matemático, cuyo objetivo es describir procesos donde un cambio gradual puede tener como consecuencia un cambio abrupto en la conducta de un sistema (Zeeman, 1977). Estos modelos se presentan como situaciones generales aplicables, entre otros, tanto en la sociología como en la biología y la física.

El segundo ejemplo nos llega desde el campo de la biología evolutiva, con la *Teoría del equilibrio puntuado*. Dicha teoría descarta el gradualismo darwiniano, impuesto por el liberalismo decimonónico, considerando que la evolución se concentra en eventos rápidos de especiación (Gould y Eldredge, 1977).

Teniendo como nuestra base filosófica el materialismo dialéctico podemos proceder y categorizar la variación que presenta el diseño vertebral a lo largo del esqueleto axial, no sólo de las serpientes sino de todos los vertebrados. Según esta aproximación podemos destacar dos tipos de variación intracolumnar. Por un lado, tenemos la *variación cuantitativa* que se refiere a vértebras de la misma región cuya anatomía cambia gradualmente. Por otro lado, tiene lugar la *variación cualitativa* que es la que ocurre entre vértebras de distintas regiones.

Según la primera ley de la dialéctica, el cambio cualitativo sucede cuando se acumula variación cuantitativa superior a un umbral. Este fenómeno es abrupto y se puede observar en intervalos muy cortos según su intensidad, por ejemplo este es el paso de las vértebras precloacales a las cloacales en las serpientes (Figura 1.5). Fenómenos como este conllevan la presencia de estructuras inconmensurables entre vértebras de estos dos tipos.

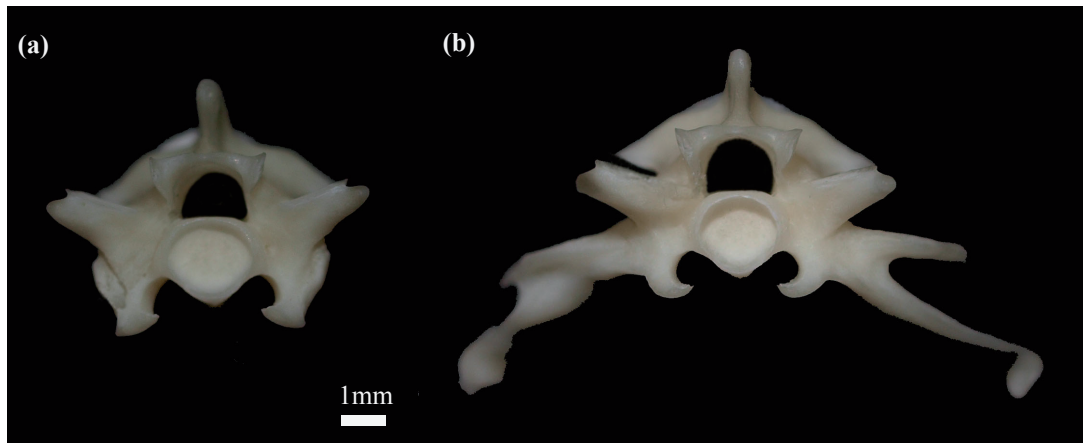


Figura 1.5: La transición de la región precloacal a la cloaca en las víboras se caracteriza por un cambio morfológico abrupto de la última vértebra precloacal (a) a la primera vértebra de la cloaca (b). Este cambio cualitativo tiene como consecuencia dos formas inconmensurables (*D.russelli* MNCN-16541; Escala=1mm).

C. El método comparativo en las estructuras seriadas

i. La problemática

Aunque un estudio comparativo puede tener lugar entre dos cráneos, lo que se pretende no es sacar conclusiones exclusivamente concernientes a estos objetos biológicos, sino comparar los dos organismos que los portan. De esta manera lo que se consigue es hablar de un organismo a través de sus propiedades, es decir utilizarlas como su *identidad*. Dicha representación parcial de un sistema vivo se justifica por el hecho de que es extremadamente difícil (sino imposible) representar tal sistema en su totalidad.

Mientras que en el caso de estructuras únicas en un organismo es fácil elegir la manera de compararlas, la comparación de estructuras seriadas es más ambigua. Así que, volviendo al cráneo, que es la parte *favorita* a la hora de comparar organismos, como es único para cada organismo es fácil admitir que puede representarle. Sin embargo, la situación no es tan fácil cuando pretendemos comparar las columnas vertebrales, la más evidente de las estructuras seriadas.

La principal dificultad en este caso surge a la hora de explicar la variabilidad observada. De hecho, mientras que la geometría del cráneo puede variar a lo largo del desarrollo, intra e interespecíficamente, la de la vértebra se somete también a la variación intracolumnar. Por lo tanto, a lo largo de la presente memoria cualquier variación morfológica se puede descomponer máximo a cuatro tipos de variación: intracolumnar (entre elementos en un individuo), ontogenética (entre semaforontes), intraespecífica (entre poblaciones) e interespecífica (entre especies).

Nuestra postura ante la variación intracolumnar, este elemento peculiar de las estructuras seriadas, es lo que determina qué elegimos como identidad en el organismo para establecer



un análisis comparativo. Distinguimos dos tipos de aproximaciones. Por un lado el *reduccionista* donde el objeto de comparación es el elemento de la serie y no la serie entera. Este tipo de análisis es el más común en la mayoría de los estudios cuantitativos. Proponemos, en este trabajo, un análisis *holista* donde, usando la variación intracolumnar como identidad del organismo, lo que se compara es el patrón de cambio morfológico de la serie entera.

Una vez representado el individuo por su variación intracolumnar se puede realizar el análisis comparativo. De esta manera, la variabilidad observada entre distintas especies de esta variación es interespecífica, mientras que la variación de este patrón durante la historia de la vida de un organismo se refiere a la ontogenética.

ii. Elemento-a-elemento: aproximación reduccionista

La aproximación de elemento-a-elemento se basa en la autonomía absoluta de las unidades de la serie, que en nuestro caso son las vértebras. En estos estudios su posición ordinal a lo largo de la columna vertebral es una condición suficiente para garantizar su correspondencia. De esta manera la 3ª torácica, por ejemplo, es comparable entre distintos especímenes. Este tipo de aproximación es el que se ha utilizado casi exclusivamente en el ámbito cuantitativo. Una condición necesaria (pero desde luego no suficiente) para recurrir a ella es la presencia de una columna vertebral, cuyo número de vértebras es invariante para todas las regiones.

No obstante este tipo de aproximación se presenta con variaciones. En primer lugar, los estudios que enfocan su análisis comparativo en sólo a una vértebra (Johnson *et al.*, 1989 y 1992). El segundo, aquellos que tienen en cuenta también las relaciones entre vértebras sucesivas (Wake, 1980; O'Higgins y Johnson, 1993; O'Higgins *et al.*, 1997). Sin embargo, dichas relaciones se analizan cada una por separado según las posiciones ordinales que representan. Por último, el caso donde todas las vértebras (por lo menos las de una región concreta) se utilizan para el análisis pero como un conjunto sin ordenar (Chen *et al.*, 2005).

iii. Módulos: un análisis comparativo holista

Un análisis comparativo basado en el patrón seriado de la columna vertebral contempla esta estructura seriada como un todo (Buscalioni *et al.*, 2005). Tal aproximación holística descarta la posibilidad de establecer correspondencia entre elementos aislados de estructuras seriadas (Goodrich, 1913), sosteniendo que sólo la homología de da a nivel de serie completa (Bateson, 1892). En este contexto las vértebras se reconocen como parte de la columna vertebral y no como unidades independientes (Butler, 1939). De esta manera, las regiones del esqueleto axial se comportan como campos morfogenéticos que se entienden como entidades modulares de



desarrollo cuyos límites se pueden definir por los dominios de expresión de los genes *Hox* y que son unidades de principales cambios ontogenéticos y evolutivos (Gilbert *et al.*, 1996).

A nivel anatómico, los posibles cambios que se puedan encontrar son cambios del patrón seriado. Este patrón se determina por las morfologías vertebrales individuales y la manera direccional que varían a lo largo de la columna vertebral, en nuestro caso la región precloacal. El patrón seriado de la forma orgánica de una columna vertebral en un contexto morfométrico se puede visualizar como una trayectoria dentro de un morfoespacio multidimensional. Ahora bien, consideramos que dicho patrón cambia si y sólo si cambia también la forma de su trayectoria. Así, en una aproximación cuantitativa el estudio comparativo entre dos columnas vertebrales se traslada al análisis comparativo de las formas de sus trayectorias. Por lo tanto el análisis comparativo entre dos columnas vertebrales se traslada al análisis comparativo de las formas de sus trayectorias dentro del morfoespacio de las geometrías vertebrales.

3. Evolución y organización del esqueleto axial de las serpientes

A. La pérdida de las extremidades en los ofidios

i. Evolución de los caracteres en las serpientes

Al margen de cualquier definición científica del grupo de las serpientes, lo más intrigante sobre ellas y la razón por la cual tienen un lugar dentro del imaginario colectivo es su forma corporal tan peculiar, es decir la falta de extremidades y su cuerpo extremadamente alargado. Dicha forma característica es la consecuencia de un proceso evolutivo que ha llevado al límite la tendencia que se observa en los lagartos de alargar su cuerpo y reducir sus extremidades (Carroll, 1988; p.234).

Para entender el proceso evolutivo detrás de tal modificación tan radical es necesario ir al origen del clado de las serpientes cuyo escenario se localiza en los ambientes marinos del Cretácico Superior. Los documentos de esta revolución en la organización morfológica son los restos fósiles de los escamosos marinos más próximos a los ofidios: los mosasaurios (Figura 1.6). El primer escamoso que presenta una reducción significativa de las extremidades anteriores acompañada por el alargamiento de su cuerpo es *Adriosaurus microbrachis* (Lee y Caldwell, 2000; Palci y Caldwell, 2007). Una organización similar tiene también *Dolichosaurus longicollis* que además presenta un cuerpo y especialmente el cuello más alargado (Caldwell, 2000). *Mesoleptos*, por otro lado, presenta incluso las extremidades posteriores reducidas, una condición más parecida a los ofidios (Lee y Scanlon, 2002a). Sin embargo, este fósil tiene la región cervical muy reducida (el número de cervicales oscila entre cinco y ocho) respecto a los dos primeros hallazgos.

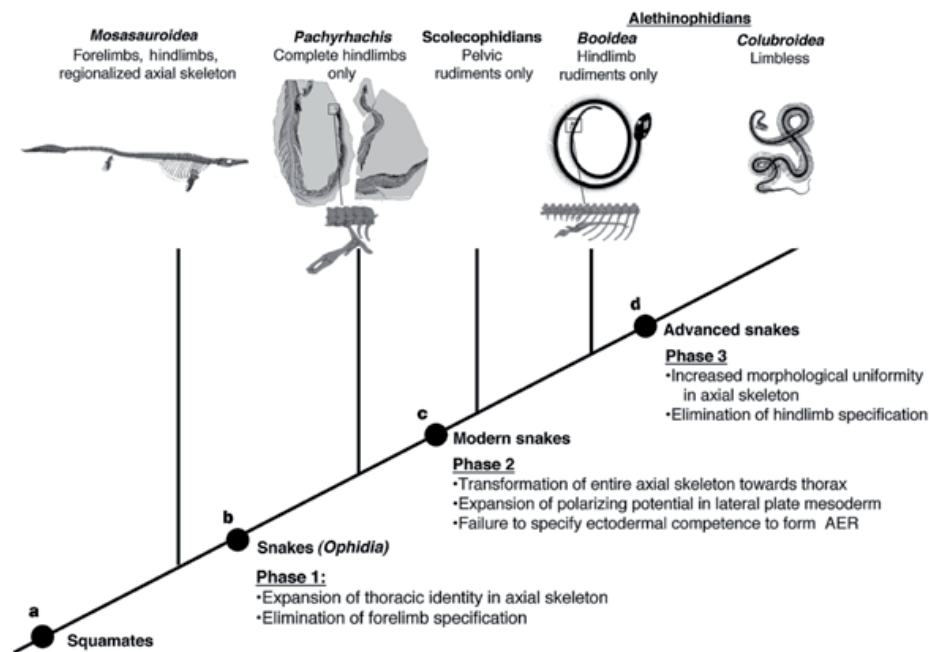


Figura 1.6: El proceso evolutivo que dio lugar a la pérdida de las extremidades en el clado de los ofidios cuya causa es la expansión progresiva de los dominios de expresión de los genes Hox. El proceso ilustrado se basa en la hipótesis de toracización de la región preloacal. a indica el origen de los escamosos, b corresponde al evento de la pérdida de las extremidades anteriores, c se mantienen las extremidades posteriores rudimentarias y d pérdida total de extremidades en las serpiente más avanzadas (tomado de Cohn y Tickle, 1999).

Un grupo de gran interés por su implicación directa en la pérdida de las extremidades son los ofidios del Cretácico que poseen dos extremidades posteriores: *Pachyophis*, *Pachyrhachis*, *Eupodophis* y *Haasiophis*. Hay dos hipótesis acerca de su afinidad con el resto de los ofidios que tienen consecuencias directas sobre el relato de la pérdida de las extremidades. La primera hipótesis sostiene que forman el grupo de ofidios más basales (Caldwell y Lee, 1997; Lee y Caldwell, 1998; Lee *et al.*, 1999; Rage y Escuillie, 2000). La hipótesis alternativa coloca este grupo más cerca de los avanzados como grupo hermano de los Macrostromata (Zaher y Rieppel, 1999; Rieppel y Zaher, 2000; Zaher y Rieppel, 2002; Rieppel *et al.*, 2003; Rieppel y Head, 2004; Polcyn *et al.*, 2005).

Estas dos situaciones se representan en la figura 1.7. Se hace patente en el primer caso que la transición de formas con extremidades hacia las serpientes más avanzadas se realiza en una progresión o tendencia. Sin embargo, en el caso de la segunda hipótesis, o bien las extremidades posteriores han resurgido en el clado de *Pachyrhachis*, o la pérdida de las extremidades no son un evento único, sino que ocurrió independientemente en varios clados de los ofidios (Zaher y Rieppel, 1999). Pues, estas formas que poseen extremidades posteriores se preceden por serpientes que las han perdido (e.g. Anilioidea). La pérdida independiente de extremidades en varios linajes de serpientes no es inverosímil, ya que es un hecho observado en varios grupos del resto de los escamosos (Greene, 1997; p. 48).

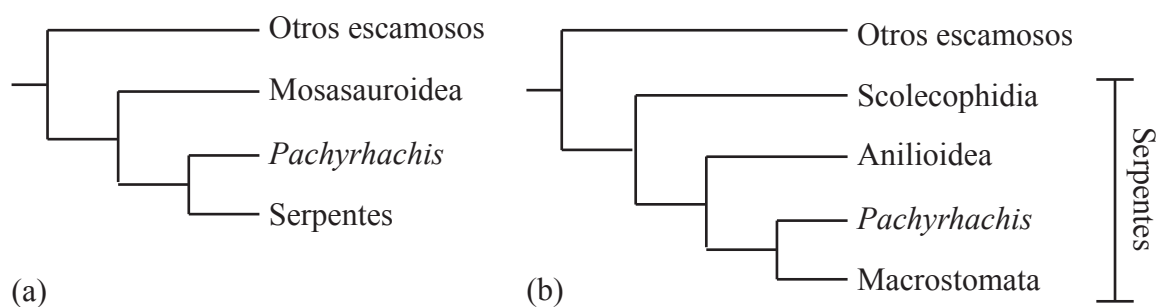


Figura 1.7: La relación que guarda *Pachyrhachis* con las serpientes es crucial para entender los procesos evolutivos que han llevado a la pérdida de las extremidades. Según la hipótesis (a) la pérdida de las extremidades tuvo lugar sólo una vez en la historia evolutiva de los ofidios, mientras que si *Pachyrhachis* se coloca dentro del clado de las serpientes (b) esta pérdida se realizó independientemente en varios linajes.

Independientemente del hecho de que la pérdida de las extremidades en el grupo de los ofidios tuvo lugar varias o sólo una única vez, el patrón que se sigue es el mismo según el registro fósil. Primero tiene lugar una reducción tanto de las extremidades como de las cinturas, siendo muy probable que la tasa de esta disminución sea más alta para las anteriores. Como resultado de este proceso se produce la pérdida total de las extremidades y cintura anteriores, mientras que se preservan las posteriores reducidas. Cuya desaparición es la última que tiene lugar. Actualmente se preservan las extremidades posteriores rudimentarias sólo en algunas formas de ofidios basales (Greene, 1997; p.38).

Hay un debate que concierne la secuencia temporal del alargamiento corporal y la reducción de las extremidades. En este contexto, mezclando la noción de la temporalidad con la de la causalidad, se ha afirmado que el alargamiento del esqueleto postcraneal precede la reducción de las extremidades (Gans, 1975; Lande, 1978; Greene, 1997; p.49). No obstante, dicha afirmación no se confirma por los datos paleontológicos, pues, como hemos visto anteriormente, ambas modificaciones estructurales suceden en paralelo. Esta observación se sostiene también por el análisis del proceso similar que tiene lugar en lagartos actuales (Wiens y Slingluff, 2001). Aparte de la relación causal o temporal de estas dos modificaciones, desde un punto de vista organizativo lo que nos interesa es analizar este acoplamiento estructural que, aunque sigue hasta hoy, se ha caracterizado por una etapa relativamente corta de cambios abruptos.

ii. Organización morfológica asociada a la pérdida de las extremidades

Obviamente, la pérdida de las extremidades para un organismo es un factor que es disfuncional si no viene acompañado por otras modificaciones estructurales. Así que, dicha modificación tan excepcional cuenta con una serie de alteraciones en el esqueleto. Aunque la aproximación descriptiva del tema es analítica, en ningún caso consideramos que la pérdida de las extremidades precede las otras modificaciones. Lo que es más plausible es que dichas modificaciones tienen lugar en paralelo de tal manera que se mantenga la cohesión del sistema.



Primera de estas modificaciones, y muy característica de la forma ofidiana, es el alargamiento del cuerpo (Gans, 1975). Esto está estrechamente vinculado con el incremento del número de las vértebras (Lindell, 1994; Richardson *et al.*, 1998), mientras que el mismo resultado, en el caso de los mamíferos se consigue alargando las vértebras (como por ejemplo el cuello de las jirafas), pues el número de vértebras para cada región no varía. Este número en los reptiles, no obstante, varía significativamente respecto al de los mamíferos (Müller *et al.*, 2010). Un caso extremo de esta variación es el grupo de los ofidios, cuyo número de vértebras oscila incluso intraespecíficamente (Lindell, 1996).

La segunda modificación se refiere a la homogeneización de la columna vertebral (Hoffstetter y Gasc, 1969; p.281). El incremento de uniformidad en el esqueleto axial de los ofidios se realiza en dos niveles, a saber cuantitativo y cualitativo. Así, por un lado, tenemos la homogeneización cuantitativa. La consecuencia de esta es la morfología vertebral uniforme a lo largo de la región precloacal. Por eso, lo que se observa es una variación intracolumnar de dicha morfología extremadamente sutil. El otro tipo de homogeneización, desde luego estrechamente vinculado con el primero, es la cualitativa. Esta se refiere a la pérdida de la regionalización del esqueleto axial donde con la desaparición de la cintura pectoral se pierde un umbral evidente entre las regiones cervical y torácica. Aun así, dicha división se puede realizar por los paleo-fidíologos donde sólo tienen hipapófisis las vértebras precloacales más anteriores, que se caracterizan como cervicales. Sin embargo, en algunos grupos la hipapófisis se puede encontrar a lo largo de toda la región precloacal (e.e. Natricinae, Viperidae), donde ni siquiera esta manera convencional de marcar el límite entre cervicales y torácicas es evidente. Así, se reconocen tres regiones bien marcadas en la columna vertebral de las serpientes: la precloacal, la cloacal y la caudal.

La última modificación de la organización axial de las serpientes se debe al hecho de que la columna vertebral deja de ser un mero soporte y participa en el movimiento. En términos construccionales pasamos desde el papel de soporte que se favorece por una regionalización de la columna vertebral a un medio de locomoción que se relaciona con la especialización local (Kardong, 2009; 309-313). Es decir, lo que ocurre es el paso de una disparidad morfológica cualitativa que incorpora potencialmente un mayor rango de variabilidad cuantitativa. La repercusión de esta especialización localizada se espera, principalmente, en la miología axial (Gans, 1975) que se caracteriza por la repetición de segmentos de músculos a lo largo del eje axial (Mosauer, 1935; Gans, 1962) relacionada además con la morfología vertebral. Una variabilidad que no se representa simplemente por un valor, sino se refleja como un patrón de cambio direccional a lo largo de la región precloacal (es decir que depende de la posición).

La organización del esqueleto axial de las serpientes se puede apreciar mediante esta dialéctica de estas dos fuerzas, es decir, por un lado la tendencia empírica de homogenizarse cuantitativamente la morfología vertebral y la especialización local de esta última conforme a su papel como medio de locomoción.



B. Genética del desarrollo

i. El número de las vértebras

El patrón rítmico de segmentación que tiene lugar a lo largo del mesodermo presomítico del embrión se describe mediante el mecanismo *clock-and-wavefront* (Dequéant y Pourquié, 2008). Como tal proceso se entiende la interacción entre un oscilador y una onda de maduración que tiene como resultado la serie periódica de los somitas. Este mecanismo tiene como resultado la presencia periódica de eventos catastróficos, que se caracterizan por un cambio abrupto de propiedades celulares, entre estados estables. Dichos eventos determinan los puntos a lo largo del eje axial que se encuentran los límites de los somitas (Figura 1.8).

El mecanismo *clock-and-wavefront* tiene dos tipos de control sobre las vértebras. Determina el número de somitas creados que constituyen los percusores de las vértebras. En concreto, lo que determina el número de vértebras es la frecuencia de la oscilación. De modo que, el número elevado de vértebras en caso de los ofidios se debe a la frecuencia alta de esta onda (Gomez *et al.*, 2008). Por otra parte, el cambio de la frecuencia de oscilación aparentemente tiene repercusiones en el tamaño de las vértebras, pues una frecuencia alta implica un periodo corto. De esta manera el elevado número de vértebras se correlaciona como un tamaño inicial de vértebras reducido, como es el caso de las serpientes.

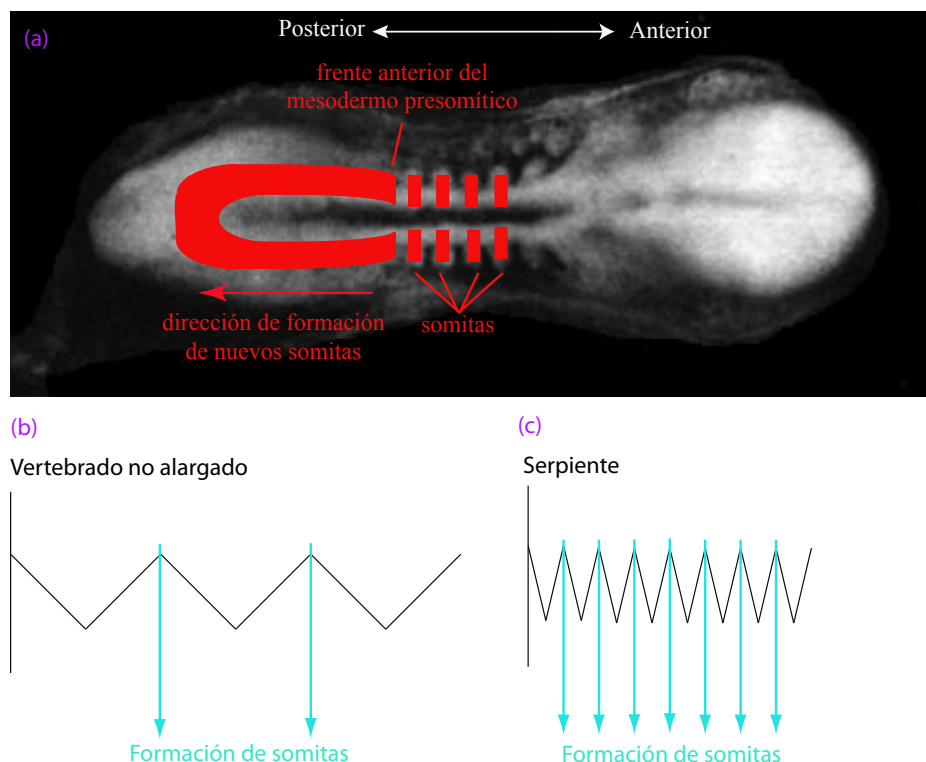


Figura 1.8: La somitogénesis se explica por el mecanismo de clock-and-wavefront, donde (a) los somitas se generan hacia la parte posterior como resultados de eventos catastróficos periódicos a nivel celular. Tanto el número como el tamaño de los somitas dependen de la frecuencia de esta onda. Así que el eje anteroposterior de los vertebrados no alargados se compone por pocos y grandes somitas (b), mientras que en el caso de las serpientes el alto número de somitas está vinculado con un tamaño de ellos relativamente menor (c) (modificado de Vonk y Richardson, 2008).

ii. La identidad de las vértebras

Mientras que el número de vértebras (y consecuentemente el grado de alargamiento del organismo) depende del mecanismo *clock-and-wavefront* (Dequeant y Pourquie, 2008), la geometría de las vértebras (y consecuentemente su identidad) se controla parcialmente por los genes *Hox* (Figura 1.9). En concreto, en este campo y relevantes a nuestro estudio, hay dos observaciones importantes. Por un lado, los límites de expresión de genes *Hox* concretos coinciden con los límites de regiones bien definidas de la columna vertebral (Kmita y Duboule, 2003). Por otro lado, la forma de una vértebra puede ser el resultado de una combinación de características por distintos genes *Hox* (Wellik, 2007).

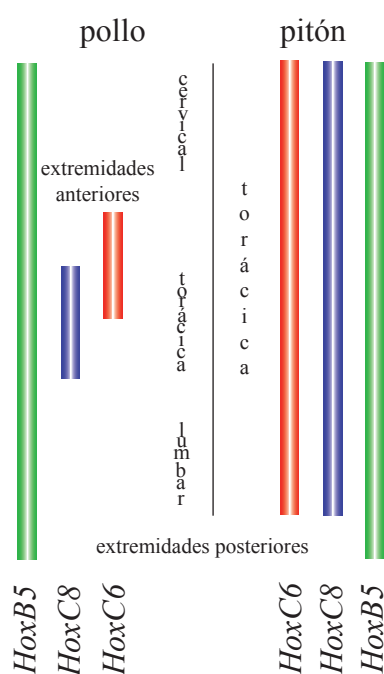


Figura 1.9: La identidad de las vértebras y consecuentemente la regionalización de la columna vertebral se controla parcialmente por el dominio de expresión de los genes *Hox*. En el caso de las serpientes la falta de la transición cervico-torácica se puede explicar por la toracicación de la región precloacal, resultado de la expansión del dominio de expresión de los genes *Hox* correspondientes.

De esta manera, la falta de regionalización se vincula con la expansión de los dominios de expresión de los distintos genes *Hox* (Cohn y Tickle, 1999), un resultado evolutivo que se debe a la reducción de restricciones de los grupos de genes *Hox* en el caso de los escamosos (Di-Poï *et al.*, 2010). Sin embargo, dicha expansión puede que no tenga un resultado tan homogéneo, como el que se figura en el trabajo de Cohn y Tickle (1999). Pues el estudio realizado por Woltering *et al.* (2009) consigue localizar límites de genes *Hox* a lo largo de la región torácica de las serpientes que simplemente no se reflejan a primera vista en la geometría vertebral. La conclusión de estos autores es que la pérdida de regionalización en algunos grupos de organismos no se debe sólo al solapamiento de los dominios de expresión de los distintos genes *Hox*, sino también a la evolución de cómo se traducen en una geometría vertebral. Cohn y Tickle (1999) en su estudio genético sobre la falta de regiones en los ofidios proponen que tanto esta última como la pérdida

de extremidades se deben a la misma causa común genética. Sin embargo, Nowicki y Burke (2000) sostienen que la identidad de las vértebras es parcialmente independiente de la de las extremidades.



La combinación de las características de distintos genes *Hox* a la hora de determinar la geometría de una vértebra, dependiendo de su grado, puede llevar a la homogeneización a lo largo de una región (Wellik, 2007). Un ejemplo en el caso de las víboras es que todas las vértebras precloacales (excepto atlas y axis) tienen tanto hipapófisis (una característica cervical) como costillas (propias de la región torácica). De esta manera, la geometría de una vértebra parece determinarse por los genes *Hox* que se expresan en la correspondiente posición y además por su grado relativo de expresión. Además, a lo largo de la región precloacal de las serpientes la transición cervico-torácica es relativamente normal (a un nivel genético), pero muy expandida (Woltering *et al.*, 2009). Este tipo de situaciones pueden explicar, aparte de la “desaparición” del límite entre dichas regiones, la variación intracolumnar muy sutil de la geometría vertebral a lo largo de la región precloacal en las serpientes.

4. Las víboras eurasiáticas: sujeto del estudio

A. Taxonomía

Los primeros hallazgos de víboras en el viejo mundo son del Mioceno temprano de Alemania y probablemente Francia mientras que en América son levemente más recientes, a saber, del Mioceno medio de Nebraska (Szyndlar y Rage, 1999; 2002). Se puede afirmar que la morfología de este grupo es bastante conservadora, pues estas primeras formas son similares a las actuales (Szyndlar y Rage, 2002).

El grupo Viperidae es un grupo monofilético y probablemente basal dentro del clado de los Colubroidea (Vidal y Hedges, 2002; Kelly *et al.*, 2003; Lawson *et al.*, 2005) que dentro de los ofidios reúnen las formas más avanzadas (Lee y Scanlon, 2002b; Slowinski y Lawson, 2002; Lawson *et al.*, 2005). Los vipéridos se dividen en dos linajes que presentan una evolución paralela los Crotalinae y los Viperinae (Brattstrom, 1964). Las víboras eurasiáticas pertenecen al último grupo y engloban los géneros *Vipera* y *Daboia* entre otros. La relevancia de estos dos grupos mencionados consiste en el hecho de que la mayoría de los estudios paleontológicos, y consecuentemente exclusivamente osteológicos, los utilizan como material de comparación.

La taxonomía de las víboras ha sufrido varios cambios durante las últimas décadas sin llegar a ningún consenso. La discrepancia principal se genera especialmente entre los estudios moleculares y osteológicos. Así que, mientras los primeros pueden detectar diferencias muy importantes creando así nuevos taxones, la osteología no confirma tales resultados. Como el presente estudio está enfocado en la organización de la columna vertebral, nos basamos principalmente en la aproximación osteológica. Una aproximación, por un lado, poco reduccionista y por otro lado mejor documentada, ya que hace uso de la información obtenida por los fósiles.



Groombridge (1980) identificó dentro del grupo eurasiático de los Viperinae tres géneros, a saber, el de *Vipera s.l.* más los de *Pseudocerastes* y *Eristicophis*. Desde un punto de vista osteológico Szyndlar (1991) dividió las víboras eurasiáticas de forma similar a la de Groombridge (1980). Szyndlar y Rage (1999) proponen una agrupación verificada de la de Szyndlar, 1991. Según dicha agrupación, estas víboras se dividen en cuatro complejos:

1. El complejo “*berus*”, que incluye, entre otros, a las especies *V. berus*, *V. seoanei* y *V. ursinii*.
2. El complejo “*aspis*”, con las especies *V. ammodytes*, *V. aspis* y *V. latastei*.
3. Las víboras orientales, que incluye a las especies *V. deserti*, *V. palaestinae*, *V. lebetina*, *V. mauritanica*, *V. schweizeri* y *V. xanthina*.
4. El género monotípico de *Daboia* (Hermann *et al.*, 1992) con la especie *D. russelli*.

Aparte de esta división morfológica tiene también sentido la división basada en la biogeografía. De esta manera se puede reconocer, por un lado, el grupo de las víboras europeas (Saint Girons, 1980; Obst, 1983) que abarcan los dos primeros complejos y por otro lado, las víboras asiáticas que incluyen las formas de los dos últimos complejos.

El hábitat de los distintos complejos presenta una continuidad en lo que concierne al grado de humedad, empezando con ambientes más húmedos para las formas del complejo de “*berus*” (con excepción la *V. ursinii* que se encuentra en zonas más secas) y encontrando a sitios más áridos individuos pertenecientes a los complejos de “*aspis*” y orientales. El género *Daboia* es divergente y representa un taxón adaptado a la zona tropical (Nilson y Andrén, 1997). En lo que se refiere a la distribución latitudinal, los ofidios del complejo de “*berus*” se encuentran más al norte y siguiendo la misma secuencia de los complejos llegamos al género *Daboia* que en el sureste de Asia cruza el ecuador. La mayoría de las víboras prefieren estar cerca del nivel de mar. La máxima altura que pueden encontrarse los distintos complejos está estrechamente relacionada con la latitud (Figura 1.10) y se disminuye hacia las asiáticas (Nilson y Andrén, 1997).

B. Anatomía vertebral

En la Figura 1.11 se puede apreciar la anatomía vertebral de una víboras con la terminología empleada a lo largo de la presente memoria que principalmente se basa en los trabajos de Rage (1984) y Szyndlar (1984). La anatomía vertebral de los ofidios es muy parecida a la del resto de los lepidosaurios con el centro procélico y el arco neural fusionados (Hoffstetter y Gasc, 1969). La innovación de las serpientes consiste en el hecho de que sus vértebras articulan entre ellas en cinco puntos (Auffenberg, 1962). El requisito de tener una anatomía vertebral muy

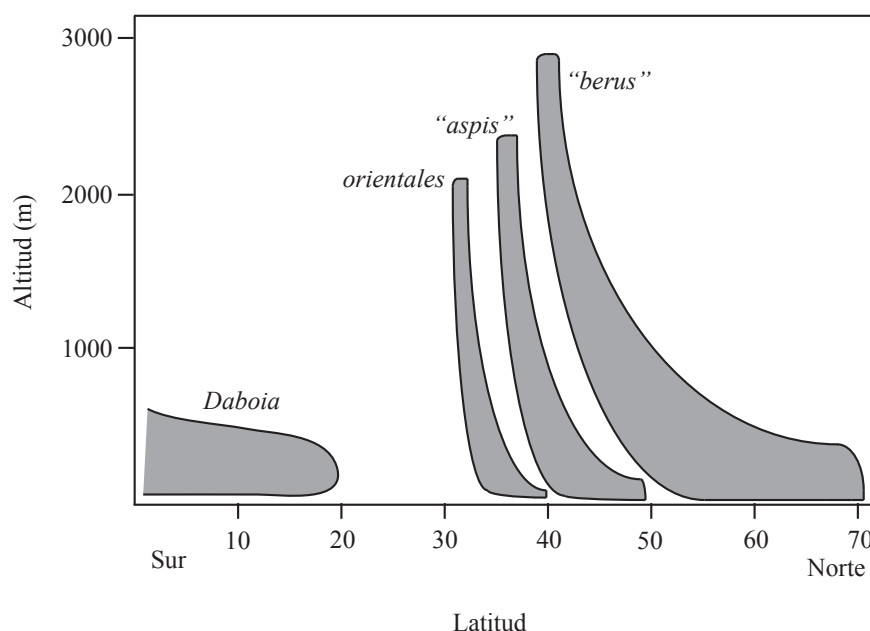


Figura 1.10: La distribución de las formas pertenecientes a los cuatro complejos de las víboras eurasiáticas respecto la latitud y la altitud. La relación entre estos dos parámetros es negativa mientras que sus valores máximos se relacionan positivamente para cada complejo. La transición entre los complejos basada en la osteología se ve reflejada también en el caso del hábitat (modificado de Nilson y Andrén, 1997).

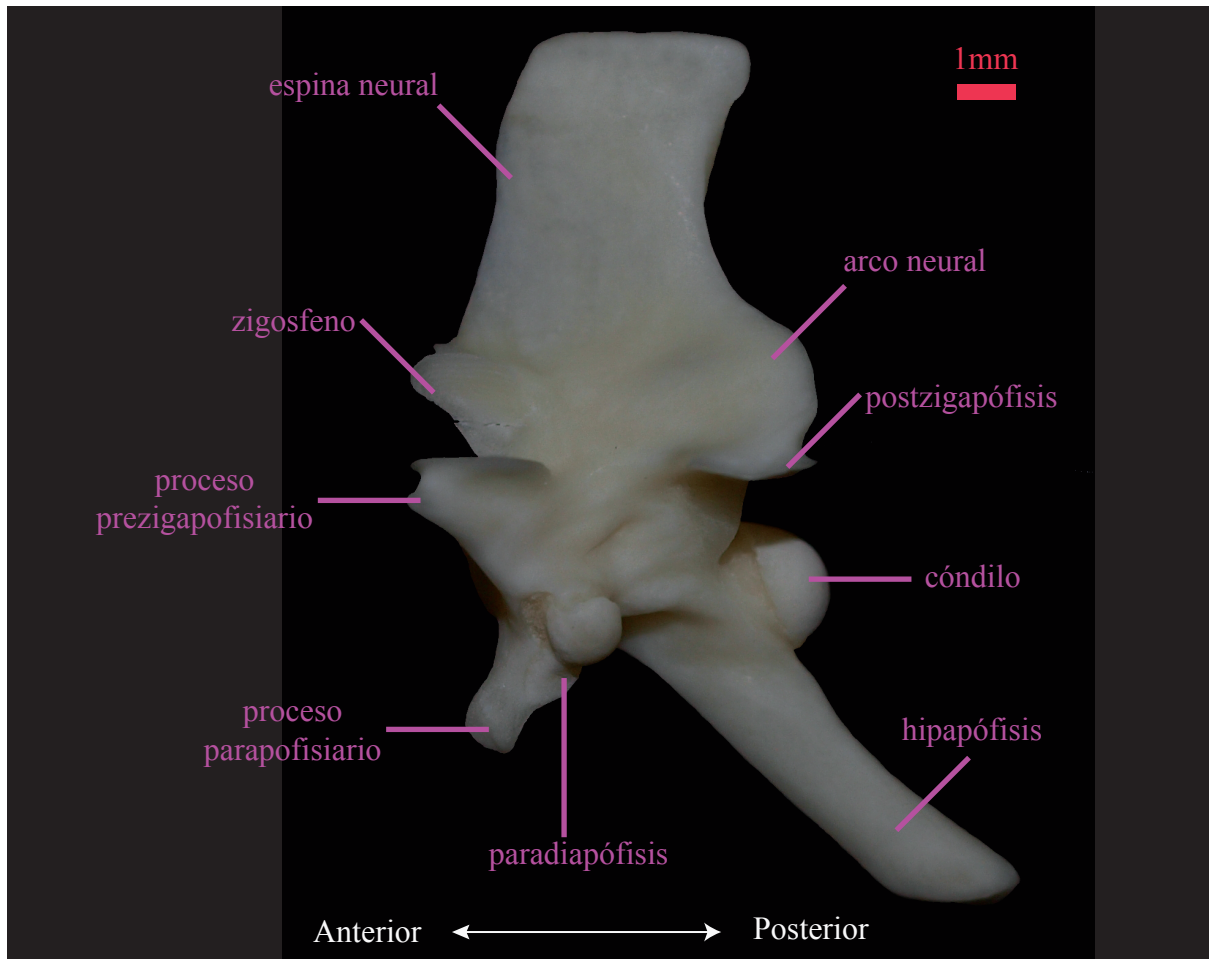
sofisticada entre los vertebrados se debe al hecho de que no solamente es un soporte del cuerpo sino también participa activamente en el movimiento (Gasc, 1976). Aparte de la flexión lateral y vertical, hay dos tipos más de movimientos, la torsión y el estrechamiento/compresión, que pueden causar daños a la notocorda y que se controlan con las articulaciones especializadas de los ofidios.

Las diferencias principales de las víboras se centran en la morfología craneal (Rage, 1984). Sin embargo, el registro fósil del grupo que se compone casi exclusivamente por vértebras aisladas. Así, las víboras destacan por la presencia de la hipapófisis a lo largo de toda la región precloacal, el arco neural aplastado y el cótilo/cóndilo grandes (Rage, 1984; Augé y Rage, 2000). Además, otros identificadores de las víboras son la morfología de la hipapófisis y las espinas neurales relativamente altas (Szyndlar, 1991).

En lo que se refiere a la distinción entre las víboras europeas y las asiáticas a nivel vertebral, las últimas cuentan con vértebras grandes, relativamente cortas, hipapófisis más largas y espinas neurales más altas (Szyndlar, 1987; Augé y Rage, 2000). Dentro de este grupo el género *Daboia* se diferencia de las víboras orientales por su espina neural relativamente más alta (Szyndlar y Rage, 1999). En lo referente a las víboras europeas los complejos de “*berus*” y de “*aspis*” se diferencian por las vértebras del último que son más cortas con hipapófisis más largas y espinas neurales más altas (Szyndlar, 1991). En general las formas del complejo “*aspis*” presentan vértebras de anatomía intermedia entre las del complejo “*berus*” y las asiáticas (Figura 1.11)



Dentro del complejo “*aspis*” *V. ammodytes* asimila más a las formas pequeñas de las víboras asiáticas, mientras que tanto *V. aspis* como *V. latasti* se parecen morfológicamente más a las del complejo “*berus*” (Szyndlar y Rage, 1999). Esta separación intra-complejo es más complicada en el resto de los complejos mencionados. Por tanto, mientras es relativamente fácil atribuir una vértebra aislada a un complejo, una identificación más fina es una tarea controvertida.



5. Objetivos

El presente estudio es un análisis cuantitativo de las vértebras precloacales de algunas víboras eurasiáticas. La limitación en la región precloacal se justifica por el hecho de que es un módulo tanto evolutivo como ontogenético. Como herramienta se aplica la metodología de la morfometría geométrica, proporcionando un valor objetivo a los resultados.



Se pueden discernir dos bloques de objetivos en este estudio: uno metodológico y uno morfológico. La parte metodológica está enfocada en el estudio comparado entre series de objetos orgánicos.. En concreto en el **Capítulo II** se describe el material analizado para el estudio. Se desarrolla la metodología de la morfometría geométrica y sus ventajas al aplicarla en el presente contexto. Se describe la adquisición de los datos (*landmarks*), su procesado adecuado y los métodos empleados para su análisis ulterior. Dado los diferentes tipos de variación que se pueden registrar en el esqueleto axial, nos hemos centrado en dos: intracolumnar y el interespecífico, dejando las variaciones ontogenéticas y las intraespecíficas fuera del análisis, en parte debido a la dificultad de obtener una muestra representativa, en parte a la complejidad en que derivarían los análisis.

Tanto los análisis multivariantes como, los métodos que se utilizan para el ajuste de los datos se emplean de distinta manera a lo largo de la memoria. Así que se explican las distintas maneras de aplicación en los dos bloques metodológicos de la Tesis. Dichas series en nuestro caso son columnas vertebrales y la aproximación cuantitativa empleada tiene como propósito la comparación holista, tratando la región precloacal como unidad. Una unidad que presenta un patrón concreto de variación, cuya expresión matemática es una trayectoria. Las geometrías de estas trayectorias se comparan, haciendo de esta manera obligatoria la aplicación de la morfometría geométrica

Se asume de partida que el estudio del grupo de las víboras permite valorar aspectos relevantes de la evolución de los ofidios. Desde el punto de vista de la evolución de los ofidios, esta herramienta metodológica aplicada al estudio de la organización morfológica del esqueleto axial, permite caracterizar las modificaciones estructurales acopladas con la pérdida de las extremidades y los cambios asociados a que tienen una coherencia funcional con su patrón de locomoción. Consideramos que estas modificaciones evolutivas se expresan en la variación en el número de vértebras, y su relación con el tamaño corporal. Así, en el **Capítulo III** se estudia del tamaño. Se analiza la relación que guarda el tamaño corporal de las víboras con su número de vértebras precloacales. Se explora la variabilidad interespecífica del tamaño vertebral sugiriendo que este tipo de variación puede ser utilizado como diagnóstico. Se discute que el patrón seriado del tamaño vertebral es importante en la biomecánica de la locomoción y está vinculado con un crecimiento diferencial de las vértebras, cuyo grado varía entre especies..

Desde un punto de vista particular se analiza comparativamente el esqueleto axial de las víboras euriasiáticas, incidiendo en la variabilidad intracolumnar e interespecífica de la geometría vertebral. El principal objetivo del capítulo **Capítulo IV** es el estudio de la geometría vertebral a lo largo de la serie precloacal, la manera en que varían las vértebras según la posición ordinal. Se abordan dos preguntas: *dónde* cambian y *cómo* cambian. La primera se responde analizando la distribución de las vértebras dentro del morfoespacio ordinal, la segunda, mediante la interpretación morfológica (que en esta memoria en ocasiones se denominan como fisi-



cas) que son explicadas a partir de las dimensiones más informativas del morfoespacio forma (multidimensional derivado de los Componentes Principales). Además, se analiza la relación que guarda el tamaño vertebral con su geometría y se discute esta relación a nivel biomecánico.

En el **Capítulo V** se realiza el análisis comparativo cuantitativo de las geometrías de las trayectorias aplicando, al menos en parte, la morfometría geométrica. En este capítulo se valora las trayectorias entre especies. Un objetivo principal de este capítulo es la puesta a punto de un nuevo protocolo donde a partir de los datos se generan modelos que se transforman en trayectorias conmensurables. Se evalúan las diferencias y similitudes entre las geometrías de las trayectorias y qué discuten sus resultados relacionándolos con las interpretaciones físicas empleada en el capítulo IV. Lo que se responde en este caso no es solamente *dónde* y *cómo*, sino también la manera que estas dos respuestas varían entre los distintos grupos de víboras analizados.

El **Capítulo VI** explora las distancias morfológicas entre vértebras sucesivas. Este tipo de análisis puede destacar puntos de inflexión no visibles por el resto de los análisis. Dichos puntos se refieren a cambios abruptos en la geometría vertebral que puede ser un índice para poder determinar la transición cervico-torácica.

En el **Capítulo VII** se sintetizan los puntos más importantes de este estudio y se discuten en relación al desarrollo y biología de las víboras. Se mencionan futuras perspectivas en este campo de investigación y se resumen las conclusiones más destacables.

1. Material

Como ya se señaló en la introducción, las víboras eurasiáticas se dividen osteológicamente en cuatro grupos (Szyndlar y Rage, 1999): 1) complejo de “*berus*”, 2) complejo de “*aspis*”, 3) víboras orientales y 4) el grupo *Daboia*. Según su distribución geográfica, los dos primeros complejos caracterizan a las víboras europeas, mientras que los dos últimos a las víboras asiáticas. En este estudio se aborda el análisis de estos cuatro complejos equilibrando, en la medida de lo posible, el número de individuos por complejo. Se incluyen quince esqueletos de ejemplares adultos procedentes de las colecciones del Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN) en Madrid y del Instituto de la Sistemática y la Evolución de los Animales (ZZSiD) en Cracovia. En la Tabla 2.1. se lista el número de especies estudiadas por complejo, el número de individuos por especie, el total de vértebras precloacales por especie y el número de vértebras estudiadas. La distribución de estas últimas a lo largo de la columna vertebral se representan en la figura 2.1.

La muestra ha dependido de las colecciones herpetológicas, en su mayoría conservadas en alcohol, y en numerosos casos con una preparación insuficiente en especial del esqueleto postcraneal. No obstante, también ha dependido del método ya que para caracterizar la variación intraespecífica e interespecífica encontramos dificultades para localizar un número mayor de individuos y de especímenes por especie que cumpliesen los criterios que imponía la metodología.

Primer criterio de inclusión en la muestra fue la representatividad del esqueleto axial. Esto simplemente significa que el número de vértebras que se puedan analizar de un esqueleto tiene que ser bastante elevado. Se consideró que por encima de las dos terceras partes es suficiente (Tabla 2.1) como estimación de la variación o la media de una variable. El peor individuo muestreado (*V. ammodytes* c) no está por debajo de la mitad de las vértebras precloacales.

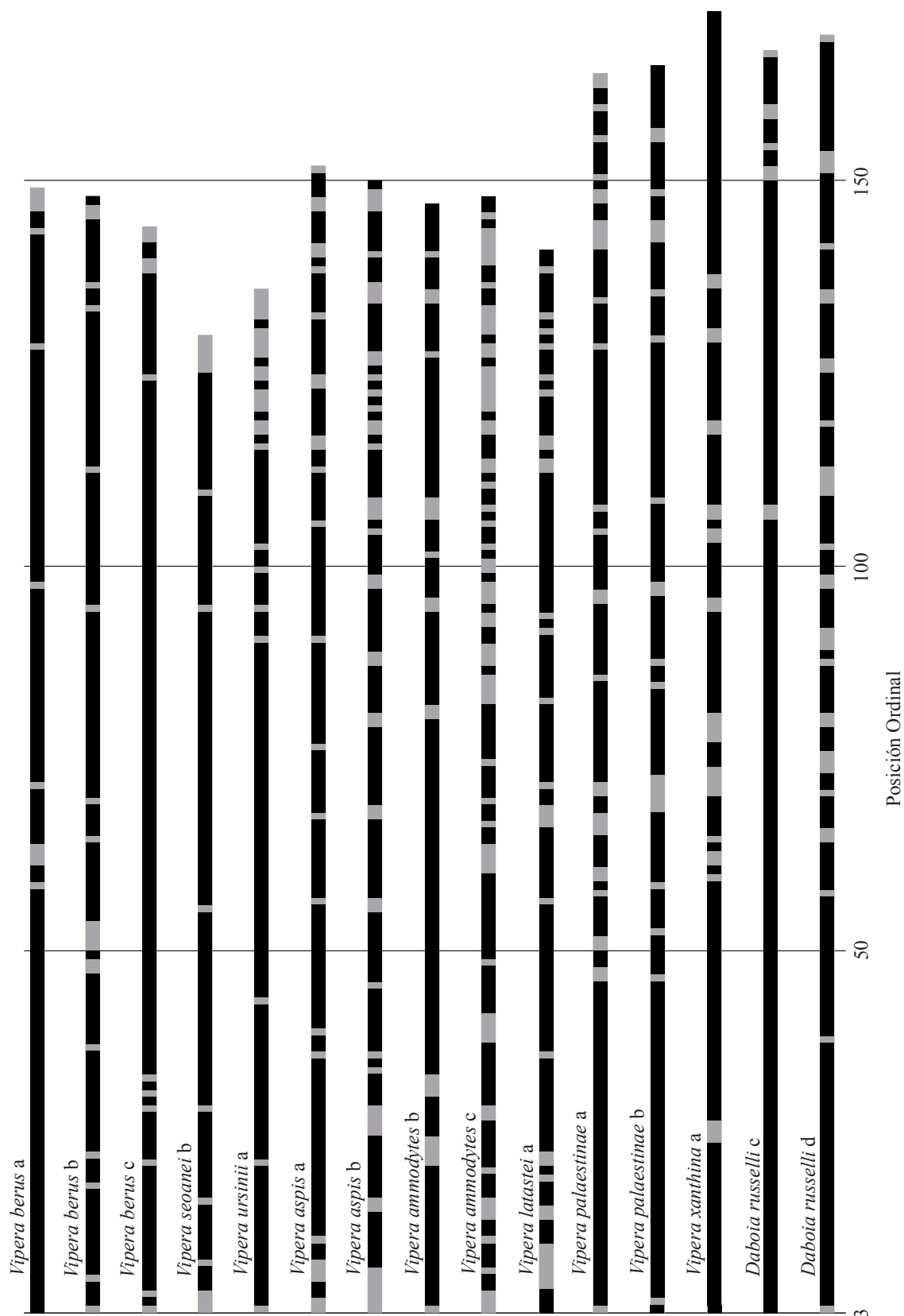


Figura 2.1: Esquema de la distribución intracolumnar de las vértebras prelocales analizadas para cada víbora. En el gráfico los números se refieren a la posición ordinal de las vértebras. Con negro se representan los intervalos incluidos en el estudio, nótese que los espacios en gris (sin analizar) son cortos. Se puede apreciar que las longitudes de los esqueletos no son iguales.



Complejo	Especimen	Abreviatura	Número de vértebras precloacales	Número de vértebras precloacales estudiadas
“berus”	<i>Vipera berus a</i>	ZZSiD363	148	135
	<i>Vipera berus b</i>	ZZSiD415	147	126
	<i>Vipera berus c</i>	ZZSiD328	143	130
	<i>Vipera seoanei b</i>	8210141*	132	121
	<i>Vipera ursinii a</i>	ZZSiD294	135	110
“aspis”	<i>Vipera aspis a</i>	MNCN16427	151	124
	<i>Vipera aspis b</i>	8410225*	149	103
	<i>Vipera ammodytes b</i>	ZZSiD334	146	124
	<i>Vipera ammodytes c</i>	ZZSiD319	147	81
	<i>Vipera latastei a</i>	820971*	140	108
orientales	<i>Vipera palaestinae a</i>	MNCN16543	163	131
	<i>Vipera palaestinae b</i>	8301201*	164	141
	<i>Vipera xanthina a</i>	MNCN16544	171	142
Daboia	<i>Daboia russelli c</i>	MNCN16542	166	156
	<i>Daboia russelli d</i>	MNCN16540	168	129
Número total de vértebras estudiadas				1861

Tabla 2.1: La lista de los especímenes analizados en el presente estudio divididos en cuatro bloques según el complejo de víboras que pertenecen. Los individuos estudiados de la misma especie se diferencian con una letra (a-d), y se indica la colección a la que pertenecen (MNCN, ZZSiD y * para los esqueletos de la colección personal de Zbigniew Szyndlar). El número de vértebras precloacales del esqueleto incluye atlas y axis. El número total de vértebras incluidas en la muestra de este estudio asciende a las 1861.



Como lo que se quiere hallar en este estudio no es solamente un valor de variación intracolumnar sino también su patrón seriado, hace falta también el orden de las vértebras. Así que, hay que saber la posición ordinal de cada vértebra a lo largo de la región precloacal. Además, para generar un patrón seriado fidedigno el muestreo no se puede realizar sólo en una parte de la región sino, si es posible, a lo largo de la región entera. Por lo tanto, las vértebras precloacales analizadas, si no son todas, tienen que estar distribuidas a lo largo de la serie de tal manera que no se quedaran espacios significativos sin muestrear. Por eso los esqueletos elegidos han podido ser muestreados uniformemente (Figura 2.1). Por tanto, manteniendo la densidad del muestreo lo más alta posible y lo más uniforme posible a lo largo del esqueleto axial se garantiza la generación de un patrón seriado representativo.

Así que de las variaciones que pudieron ser exploradas fueron la intracolumnar, representada por vértebras uniformemente muestreadas a lo largo de la región; intraespecífica, con tres individuos de la misma especie como máximo; e interespecífica incluyendo las especies con una distribución más amplia como material de comparación. La variación ontogenética no se pudo analizar directamente, ya que los esqueletos de víboras juveniles están prácticamente ausentes en las colecciones.

2. Métodos

A. Morfometría Geométrica

Las aproximaciones cuantitativas al estudio de la anatomía hacen uso de las herramientas de dos paradigmas principales, a saber, la morfometría tradicional y la morfometría geométrica (para su relación histórica véase *Introducción*). La primera incluye medidas lineales, ratios y ángulos para cuantificar la forma orgánica (Reyment, 1991). La morfometría geométrica usa como datos de partida puntos de coordenadas que representan la configuración de los objetos. Esto hace posible la reconstrucción de los objetos en el espacio físico, facilitando de esta manera la visualización de los resultados. Otra ventaja del paradigma morfométrico actual consiste principalmente en el hecho de que la comparación cuantitativa se realiza para las geometrías de los objetos, prescindiendo de esta manera del tamaño subyacente a las variables omnipresentes en los resultados en la morfometría tradicional. Por último, el manejo estadístico de los datos geométricos es más riguroso (Rohlf y Marcus, 1993; Adams *et al.*, 2004; Slice, 2007).

Mientras que la morfometría tradicional aplica los análisis multivariantes directamente a las medidas tomadas, la morfometría geométrica requiere un procesamiento anterior de los datos originales. Así la morfometría geométrica se puede descomponer en tres pasos principales:

1. Adquisición de datos: Esto incluye la representación de los objetos biológicos como configuraciones de *landmarks*.



2. Superposición: Con esta etapa se consigue la comparación de las configuraciones.
3. Análisis multivariante: Se usan los análisis estadísticos tradicionales que se aplican en variables geométricas.

i. Adquisición de datos: *landmarks*

Un *landmark* es un punto de correspondencia en cada objeto (Dryden y Mardia, 1997; p.3). Dichas coordenadas pueden representar dos o tres dimensiones. La morfología de un objeto se representa por un número de *landmarks* elegidos. Este conjunto define la *configuración* del objeto. Los *landmarks* tienen que cumplir dos requisitos, a saber, el de ser homólogos entre sí y el de estar presentes en todos los especímenes (Zelditch *et al.*, 2004; p.24). Dependiendo de la naturaleza del estudio realizado y de la hipótesis planteada dicha homología puede ser anatómica y/o funcional. En el presente estudio los *landmarks* elegidos son anatómicos y se refieren a los rasgos característicos de las vértebras precloacales (Figura 2.2a y su definición anatómica en la Tabla 2.2). Los *landmarks* tienen que estar distribuidos uniformemente sobre el objeto estudiado. Además, es fundamental que cubran estructuras cuya variabilidad es determinante para interpretar la organización morfológica y construccional. El conjunto de *landmarks* para cada objeto se define como configuración. Así las vértebras analizadas se abstraen a configuraciones (Figura 2.2b).

Las vértebras fueron fotografiadas en vista lateral, vista que cuenta con información relevante para la variación intracolumnar (Johnson, 1955; Sarris *et al.*, 2012). Se tomaron 22 *landmarks*, repitiendo la toma de datos dos veces para cada vértebra, calculando la media con el propósito de minimizar el error de observación (estas medias que se utilizan para los análisis están incluidas al CD que acompaña la Tesis) . La toma de todos los datos se realizó por el mismo observador.

Para el presente estudio la abstracción de la anatomía vertebral de las víboras eurasiáticas se realiza en 2D. Los datos se toman a partir de imágenes con una cámara Olympus E-520 y un objetivo macro (50mm 1:2 Macro de Olympus). Datos de coordenadas en 3D hubiesen requerido imágenes de CTscan debido a que las vértebras de los ofidios pueden llegar a tener dimensiones muy pequeñas. No todas las vértebras precloacales se incluyen en la muestra, se han excluido las que estaban deterioradas, y las que presentaban patologías.

ii. Superposición

Las configuraciones de los objetos analizados se obtienen en distintos sistemas de coordenadas y consecuentemente son inconmensurables. Así, la comparación entre ellas se puede realizar sólo si se llevan al mismo sistema de coordenadas. Esto se realiza con la superposición de las

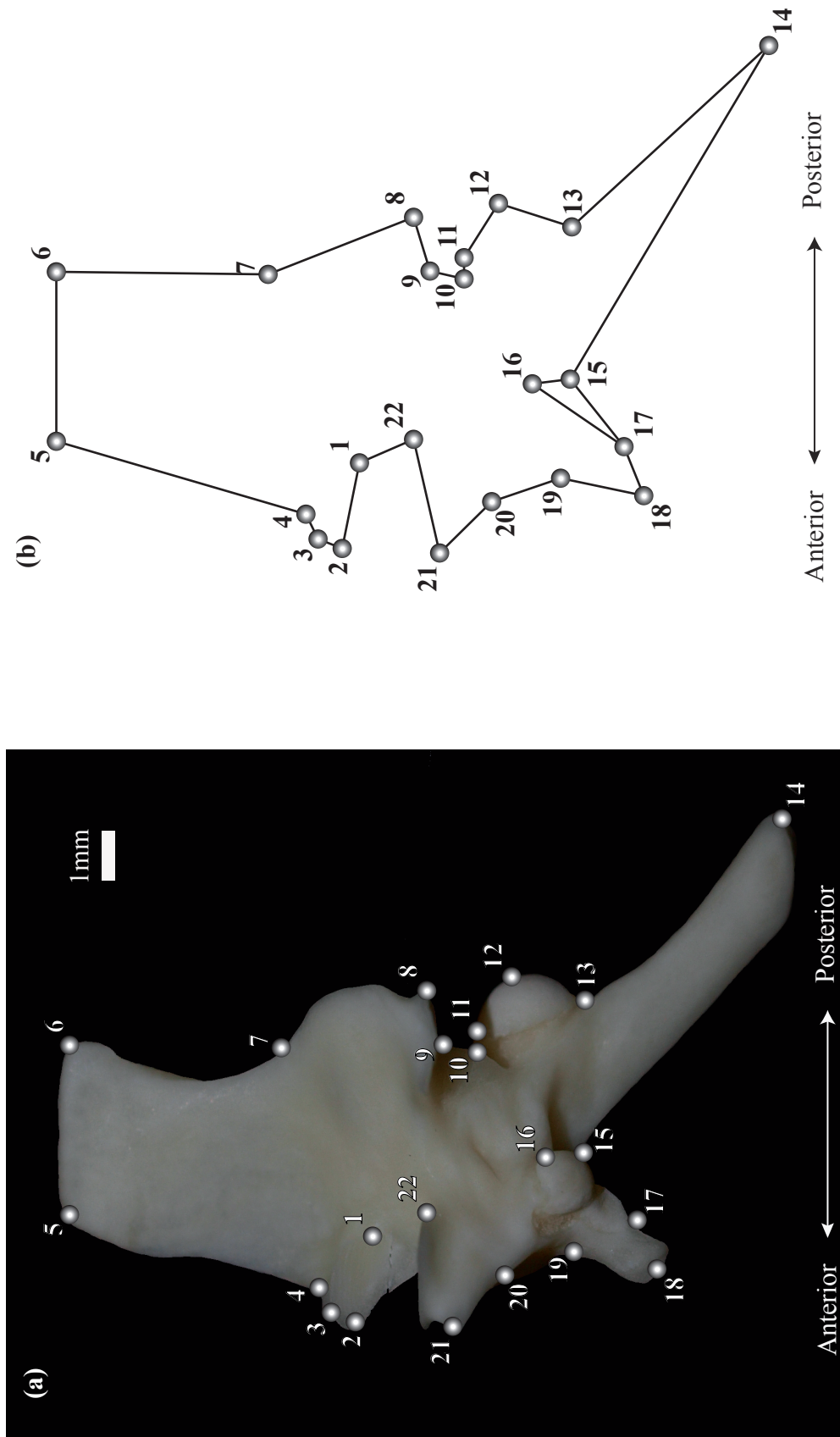


Figura 2.2: Los landmarks elegidos para representar la morfología vertebral. a) Vértebra #20 de D.russelli (MNCN-16541) en vista lateral izquierda y los 22 puntos elegidos (para las definiciones véase Tabla 2.2). b) Configuración con el correspondiente wireframe que se ha usado para describir las deformaciones de la geometría vertebral.



Landmark	Descripción anatómica
1	Extremo posterior del zigofeno
2	Extremo anterior del zigofeno
3	Extremo anterior del arco neural
4	Punto donde se eleva la espina neural
5	Extremo antero-dorsal de la espina neural
6	Extremo postero-dorsal de la espina neural
7	Punto de encuentro de la espina neural con el arco neural
8	Extremo posterior de la postzigapófisis
9	Punto de intersección entre postzigapófisis y la pared del canal neural
10	Punto de intersección entre la pared lateral del canal neural y el centro
11	Extremo dorsal del cóndilo
12	Punto en el centro del arco determinado por el cóndilo
13	Extremo ventral del cóndilo
14	Extremo postero-ventral de la hipapófisis
15	Punto de intersección entre hipapófisis y paradiapófisis
16	Extremo postero-dorsal de la paradiapófisis
17	Extremo antero-ventral de la paradiapófisis
18	Extremo antero-ventral del proceso parapofisiario
19	Punto de intersección entre el proceso parapofisiario y el cótilo
20	Punto de intersección entre la prezigapófisis y el cótilo
21	Extremo anterior del proceso prezigapofisiario
22	Extremo posterior de la prezigapófisis

Tabla 2.2: Descripción anatómica de los landmarks de las vértebras analizadas, los términos anatómicos empleados se pueden consultar en la Figura 1.11.

configuraciones. Al final de este proceso extraemos la información afín al traslado, la rotación y el tamaño (Gower, 1975; Chapman, 1990; Rohlf y Slice, 1990) de las configuraciones dejando exclusivamente la información *geométrica* (según la definición de geometría por Kendall (1984 y 1989)). El procedimiento general de superposición por etapas se puede seguir en el *Box 2.1*.

Este análisis se basa en un algoritmo de cálculo iterativo de las distancias entre los *landmarks* de todas las configuraciones. Su propósito es la minimización de la suma de las distancias entre todos los *landmarks* correspondientes respecto a una configuración concreta. La elección de esta última determina dos tipos de superposición. Así, cuando se trata de la configuración mediana de la muestra, se conoce como *resistant-fit* (Siegel y Benson, 1982). Esta superposición tiene la ventaja de que los valores medianos son poco sensibles a los valores extremos de una muestra. Este puede ser el caso de deformaciones limitadas en muy pocos *landmarks*, como es el caso del *efecto pinocho* (Rasskin-Gutman, 1995; Marugán-Lobón



y Buscalioni, 2004). Sin embargo, aunque esta manera de procesar los datos es robusta, la interpretación final de ellos es problemática (Rohlf y Slice, 1990).

La segunda manera de superponer un conjunto de configuraciones es minimizar sus distancias respecto a la configuración media. Este tipo de superposición se denomina Análisis de Procrustes y es ampliamente empleado gracias a sus ventajas estadísticas (Rohlf, 1999a y b). Dentro de este grupo de superposiciones se pueden distinguir dos categorías. Por un lado el Análisis Total de Procrustes (*Full Procrustes Analysis*) donde las configuraciones se ajustan a cualquier valor de tamaño con la condición de que este tamaño minimice las distancias geométricas entre los especímenes de la muestra. O bien, se puede aplicar el Análisis Parcial de Procrustes (*Partial Procrustes Analysis*) donde todas las configuraciones se escalan de tal manera que tengan un valor de tamaño común (el cual convencionalmente es igual a 1). El presente estudio hizo uso del Análisis Total de Procrustes (Dryden y Mardia, 1997).

BOX 2.1: La superposición de las configuraciones

La meta de la superposición es la conmensurabilidad de las configuraciones de landmarks originales. Esto se realiza reuniendo todas las configuraciones en el mismo sistema de coordenadas. En su uso común en la bibliografía morfométrica este término implica también la preservación sólo de la información geométrica en las configuraciones. Información expresada mediante las variables geométricas. Así, como superposición se entiende el proceso que se descompone en tres etapas, a saber, el traslado, el escalado y la rotación. Mientras que la aplicación del proceso entero significa el paso de la configuración original a la geometría, entre las etapas surgen distintos tipos de configuraciones que se pueden ver en la Figura B2.1.

En este esquema del procesado de los datos en morfometría geométrica aparte de los tipos de configuraciones ya mencionados podemos ver (i) la *configuración centrada*, que se refiere a la configuración cuyo *centroide* coincide con el origen del sistema de coordenadas, (ii) la *forma* que es básicamente lo que vemos nosotros o medimos con la morfometría tradicional, ya que no solemos tener en cuenta la orientación o el tamaño de un objeto para describir su morfología y (iii) la *configuración pre-geométrica*, que se refiere a la configuración escalada y trasladada que no se ha rotado.

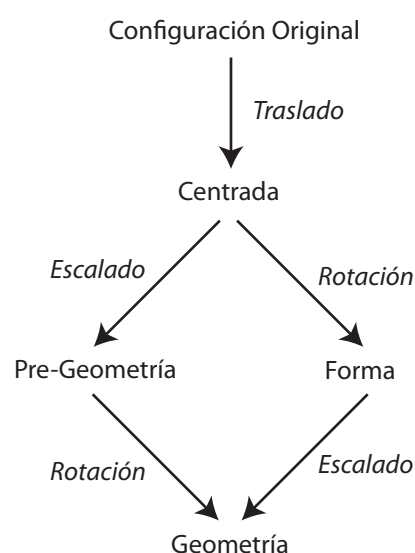


Figura B2.1: El desglose de la superposición de configuraciones cuyo resultado es la configuración que contiene solamente la información geométrica del objeto estudiado. Los datos originales se trasladan, se escalan y se rotan. También se pueden ver los tipos de configuraciones que se generan en las etapas intermedias del análisis (modificado de Dryden y Mardia, 1997).



Tras la superposición de todas las configuraciones, las coordenadas de cada una de ellas se expresan como desviaciones de las de la configuración media. Dichas desviaciones se llaman residuos de Procrustes. No obstante, esta nueva expresión de las coordenadas de las configuraciones excluye todo lo concerniente al escalado, la rotación y el traslado, por eso las incluimos dentro del grupo de las variables geométricas. Dichas son las variables que se utilizan para los análisis multivariantes. En el *Box 2.2* se puede ver la mayoría de las variables que se van a utilizar a lo largo de la presente monografía.

Box 2.2: Las variables usadas.

Geometría: la geometría de un objeto orgánico se puede representar en su totalidad mediante las variables geométricas (Dryden y Mardia, 1997). En el presente estudio las variables geométricas se refieren casi exclusivamente a los componentes principales, a menos que se indique lo contrario. Esta elección se debe a que a lo largo de dichas dimensiones tiene lugar la máxima variación, es decir información. Además, su interpretación física puede ser fácilmente extraída.

Tamaño: En morfometría geométrica la estimación del tamaño se da mediante el *tamaño del centroide*. Este valor se halla independientemente para cada configuración de landmarks al sumar los cuadrados de las distancias de todos los landmarks del *centroide* (las coordenadas medias de todos los landmarks en una configuración). Dicho valor se denomina aquí como *tamaño absoluto*. Aparte de esto es conveniente contar con otro valor de tamaño de cada vértebra respecto al tamaño medio de la columna. Así que, el *tamaño relativo* de una configuración se refiere al tamaño absoluto de esta configuración dividido por el tamaño absoluto medio de la serie de vértebras que pertenece. Hay que mencionar aquí que la *Desviación Estándar* del *tamaño relativo* para cada individuo es igual al coeficiente de Variación de los tamaños vertebrales del mismo. Con esta transformación se garantiza la comparabilidad de variables con distintas medias (Sokal y Rohlf, 1995; p.58 y p.834)

Posición Ordinal: Como el estudio está enfocado al análisis de series, es relevante el uso de la ubicación a lo largo de la serie. Por esta razón, la *posición ordinal absoluta* se refiere a la ubicación de un elemento a lo largo de la región precloacal. Por otro lado, la longitud de los esqueletos axiales traducida en número de objetos que la componen no es igual entre los especímenes (ni siquiera intraespecíficamente). Por eso, la variable de la *posición ordinal relativa* se emplea para normalizar las longitudes de las series. Así dicho valor se halla con la división de la posición ordinal absoluta por el número de vértebras precloacales del espécimen analizado.



iii. Visualización

La reconstrucción de los objetos en el espacio físico es una de las herramientas más potentes de la morfometría geométrica. De esta manera se pueden visualizar los resultados obtenidos por los distintos análisis.

Lo que se visualiza son los cambios de la distribución relativa de los *landmarks* en una configuración. Este tipo de deformaciones se observan y consecuentemente se evalúan a lo largo de ejes. Para su interpretación hace falta el uso de una configuración como referencia que suele ser la configuración media. Además, dichas deformaciones conllevan una direccionalidad respecto a la configuración de referencia, determinadas por un valor positivo o negativo. Las deformaciones de las configuraciones del mismo grado absoluto a lo largo de la misma dimensión pero con direcciones contrarias son antitéticas.

B. Análisis de datos

i. Análisis Multivariante

a. Análisis de Componentes Principales (PCA)

Los datos originales se encuentran en un espacio cuyo número de dimensiones es igual que el número de variables. En nuestro caso las variables son coordenadas y el espacio dentro del cual se encuentran las observaciones podríamos denominarlo morfoespacio (Rasskin-Gutman, 1995). La visualización de este último es imposible por su alto número de dimensiones, así que se requiere reducirlas. Sin embargo, esto supondría la reducción de información muy importante. Así, teniendo en cuenta que la información contenida en un espacio multidimensional es altamente redundante, con criterios adecuados podemos simplemente prescindir de las dimensiones redundantes que aportan muy poca información.

Todo este proceso se puede realizar aplicando el Análisis de componentes principales (PCA). Pues este último es una herramienta que al reconsiderar los datos, permite reorientarlos manteniendo la máxima información posible a lo largo de las primeras dimensiones (Lattin *et al.*, 2003; p.83). Dicha reorientación tiene como consecuencia la creación de nuevas variables, los componentes principales (PCs) que son perpendiculares entre sí (es decir independientes) y son combinaciones lineales de las variables originales. Así un morfoespacio de n dimensiones se expresa mediante los PCs ordenados como $1, 2, \dots, n$. La importancia de cada uno de ellos (la varianza que explica) disminuye a lo largo de esta secuencia. Cada PC está acompañado por un valor propio (*eigenvalue*) que es la varianza que explica y por un vector propio (*eigenvector*) que refleja su orientación respecto a las variables originales.



En el caso de la morfometría geométrica como variables originales se usan los residuos de Procrustes que son variables geométricas, resultado de la superposición. En nuestro caso, entonces, se genera un morfoespacio de geometrías vertebrales. La aplicación del PCA en esta muestra tiene como resultado la creación de unas nuevas variables que son también variables geométricas y cada una de las cuales, como coincide con una dimensión en el morfoespacio, refleja una deformación concreta en el espacio físico. De esta manera cada PC se caracteriza por su importancia (porcentaje de varianza que explica) y por su interpretación física (de qué manera varía la geometría de la configuración a lo largo de él).

b. Escalado Multidimensional (MDS)

El escalado multidimensional (MDS) es una metodología que se aplica a una matriz de distancias entre pares de objetos cuyas coordenadas se desconocen. El propósito del MDS es generar un espacio euclídeo con el mínimo número posible de dimensiones donde se distribuyen los distintos objetos de tal manera que sus distancias representen lo mejor posible las distancias originales (Cox y Cox, 2001). Es decir, lo que hace es calcular coordenadas para cada objeto de la muestra respetando lo máximo posible estas distancias originales. De esta manera se genera un gráfico donde la distribución espacial de los puntos (objetos) nos da una imagen coherente y más intuitiva de nuestra muestra.

La utilidad de este método consiste en el hecho de que teniendo una matriz de semejanzas entre pares de objetos es fácil evaluar la similitud entre dos objetos. Sin embargo, cualquier evaluación acerca de putativas agrupaciones es muy difícil. Esta información fragmentada, con el MDS, se puede sintetizar como distribución de los objetos en el espacio (Figura 2.3).

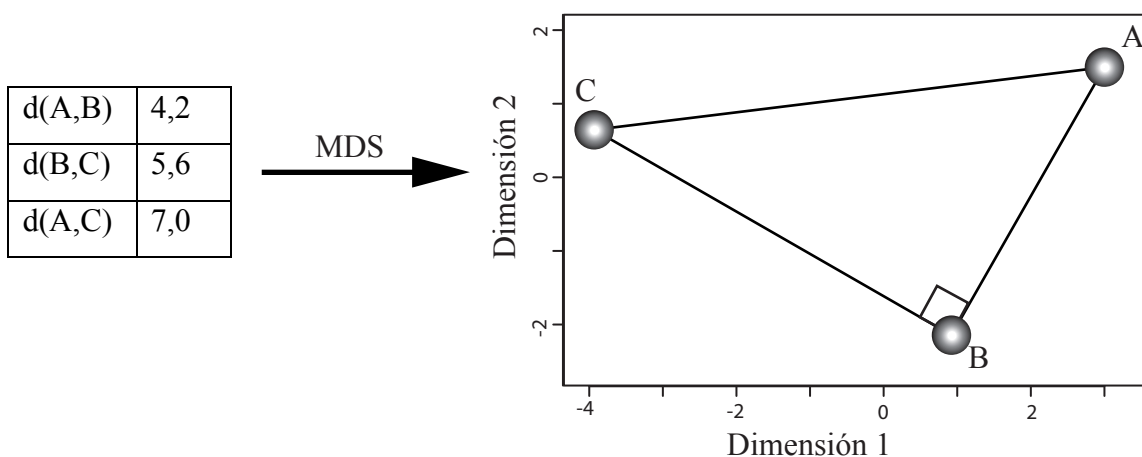


Figura 2.3: Un ejemplo que ilustra el uso del MDS. Los datos son sobre tres objetos, donde exclusivamente se incorporan distancias. Al aplicar el MDS, se genera un espacio tal que la distribución relativa de los objetos respeta lo máximo posible las distancias dadas. De esta manera se puede ver que los objetos en cuestión son los vértices de un triángulo rectangular, propiedad que no se puede ver en la tabla original. Las dimensiones del espacio generado en MDS siguen la misma regla que las del PCA, a saber, según su varianza.

ii. Modelos predictivos

a. Modelos Aditivos Generalizados (GAM)

Nuestra aproximación se basa en el análisis comparativo entre estructuras seriadas y por consiguiente trayectorias en un morfoespacio. El estudio de la forma de las trayectorias se facilita ajustando los datos a un modelo. Sin embargo, como nuestro interés se centra en la forma, cualquier decisión *a priori* acerca del modelo relativo al grado del polinomio que se use en el ajuste puede sesgar los resultados. Por tanto, se requiere de una metodología capaz de generar un modelo donde no haya que decidir *a priori* su geometría. Tales modelos se basan en curvas continuas que se generan interpolando las observaciones, y se denominan Modelos Aditivos Generalizados (*Generalized Additive Models*, GAM; Hastie y Tibshirani, 1990).

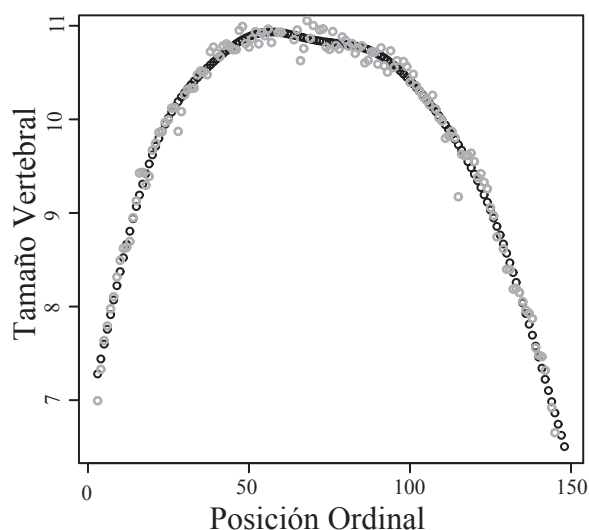


Figura 2.4: Estimación del modelo de la trayectoria con la aplicación de GAM para el patrón seriado del tamaño vertebral a lo largo de la región precloacal en el espécimen de *V.berus* a. Los valores reales del tamaño vertebral se representan con los puntos grises mientras que los valores estimados por el modelo son los puntos negros.

Los GAM son modelos semi-paramétricos cuyo uso está extendido en muchas disciplinas. Sus aplicaciones en ecología son muchas (Guisan *et al.*, 2002). Su éxito consiste en la falta de asunciones, cosa que es central a la hora de elegir el modelo de ajuste para los datos. Además es una herramienta que no se suele definir como modelo sino como *data-driven* porque lo que genera es una curva suavizante de las observaciones.

Los GAM se basan en la elección de una variable independiente y una variable dependiente, siendo así muy parecido a lo que hacemos en cualquier análisis de regresión. En nuestro caso, como variable independiente se usa la posición ordinal de una vértebra y como variable dependiente el tamaño o la geometría vertebral según el caso. Entonces, este análisis hace uso de los valores originales de la variable dependiente e interpolándolos genera una curva continua. El propio programa elige el grado de libertad de esta curva, eliminando el problema de asumir *a priori* sus grados de curvatura (Figura 2.4).



b. Análisis de regresión

La regresión estudia la relación de dependencia entre dos variables. Lo que nos puede decir este análisis es qué tipo de relación se establece y lo significativo que es (Lattin *et al.*, 2003; p. 38). La asunción subyacente es que una de las dos variables analizadas es independiente y la otra dependiente. Tanto el tipo de ajuste que se hace como su importancia estadística se determinan por el uso de los mínimos cuadrados. Aunque en este contexto, la minimización del error entre observaciones y modelo tiene lugar sólo a lo largo de la variable dependiente. Lo bien que se puede ajustar un modelo de regresión a los datos se puede evaluar con el uso del R^2 . Este es el porcentaje de la variación total de la variable dependiente que se explica por el modelo propuesto.

Los tipos de regresión que se van a utilizar a lo largo de la presente monografía son tres: lineal, exponencial y segmentado. La regresión lineal es la más común, adecuada para un sistema cuyo comportamiento se presenta como gradual. Por otro lado, la regresión exponencial caracteriza un sistema dinámico, manteniendo estable el aumento de la tasa de incremento de la variable dependiente. Por último se encuentra la regresión segmentada que merece una mención especial por su escaso uso, especialmente en los estudios morfométricos.

La regresión segmentada se encuentra en casos donde la relación entre la variable predictiva y la dependiente no es lineal y se caracteriza por un punto de cambio abrupto (Muggeo, 2003). Así, el punto de quiebra se refiere a un valor específico de la variable independiente y caracteriza el paso de un patrón lineal a otro (Wagner *et al.*, 2002). El rango de valores a lo largo del cual el patrón se conserva como lineal se llama segmento. Este tipo de modelo se refiere a sistemas donde el cambio gradual, a partir de un umbral de valores de la variable independiente, puede causar un cambio del patrón.

iii. Programas informáticos

La digitalización de las vértebras se realizó con el programa informático *TPSdig2* (Rohlf, 2010). El resto de los análisis se llevó a cabo con el programa *R* (*R Development Core Team*, 2008). Para la realización de la superposición y los GAM se han usado los paquetes *shapes* (Dryden, 2012) y *mgcv* (Wood, 2012) respectivamente.



3. Protocolo metodológico empleado

La siguiente sección ofrece la estructura de los análisis aplicados a lo largo de la monografía y se introducen algunos términos para facilitar la comprensión del protocolo propuesto y de los resultados. Como nuestra meta no es confundir proponiendo nuevos conceptos, seguimos criterios y combinamos conceptos de otras publicaciones.

Este estudio se centra en la comparación de estructuras seriadas usando como sujeto la región precloacal de las víboras. Como ya se ha mencionado en la *Introducción* la aproximación holista trata la estructura seriada como un patrón. Dicho patrón en nuestro caso se refiere como patrón seriado. Como tal se concibe la descripción de la geometría vertebral cambiante a lo largo de la región precloacal. La herramienta matemática de esta variación anatómica es la trayectoria, que modeliza el camino de un objeto al cambiar su geometría a lo largo de una serie en el morfoespacio (Alberch *et al.*, 1979; Richtsmeier y Lele, 1993; Dryden y Mardia, 1997). Ambas nociones conllevan la direccionalidad constituyendo una secuencia según su orden (siguiendo en el caso de la columna vertebral la posición ordinal). Por tanto, el patrón seriado de la geometría vertebral se refiere a la manera que varía la configuración geométrica de los *landmarks* en el espacio físico desde el cráneo hasta la cloaca, mientras que su trayectoria se refiere a la curva que se genera al conectar los puntos, que representan las vértebras, en el morfoespacio siguiendo el mismo orden. Hay que comentar en este punto que la trayectoria se puede referir tanto a una serie temporal (como la variación de un objeto durante el desarrollo) como a una serie espacial, como lo son las estructuras seriadas.

Una vez explicados los términos principales es preciso explicar algunas peculiaridades concernientes a la metodología. Pues gracias a la naturaleza del estudio algunos de los análisis anteriormente desarrollados se aplican e interpretan de distinta manera a lo largo de esta monografía.

Datos: Hay dos tipos de *landmarks* en el presente estudio. Por un lado tenemos los *landmarks* de coordenadas tomados en el espacio físico usando como objeto (y consecuentemente unidad de comparación) a las vértebras. La abstracción de estas últimas se consigue mediante las configuraciones (Capítulos III y IV). Por otro lado, a la hora de comparar trayectorias hacemos uso de los *landmarks* para generar configuraciones de trayectorias que representan las unidades comparadas (que reflejan el patrón seriado de cada individuo). Los *landmarks* de trayectorias en este caso se refieren a coordenadas del morfoespacio y por tanto no arbitrarias (Capítulo V).

Superposición: Se utilizan dos tipos de superposición. Primero se utiliza el análisis de Procrustes total para generar geometrías vertebrales en el mismo sistema de coordenadas superponiendo las configuraciones originales (Capítulo III y IV). En el caso de la comparación entre configuraciones de trayectorias la superposición que se utiliza se limita a trasladarlas (Capítulo V).



Visualización: Durante la presente memoria nos vamos a enfrentar a dos tipos de representaciones. Por un lado se encuentran las que corresponden a las configuraciones de *landmarks* de las vértebras, que expresan su distribución relativa en el espacio físico (Capítulo IV). Por otro lado, tenemos las configuraciones de trayectorias que se realizan dentro del morfoespacio (Capítulo V). Sin embargo, como nuestro interés es también la anatomía vertebral y su patrón seriado, estas últimas hay que llevarlas al espacio físico para que sean interpretables.

Análisis de Componentes Principales: El PCA, en el Capítulo IV, se aplica para la reducción de las dimensiones del morfoespacio de las geometrías vertebrales. No obstante, para estudiar la variabilidad de las geometrías de las trayectorias se genera un nuevo espacio multidimensional, el espacio de trayectorias. Así que para visualizar este último, se requiere una reducción de sus dimensiones, el PCA de trayectorias a la que nos referimos como *MetaPCA* (Capítulo V).

Modelos Aditivos Generalizados: La generación de curvas continuas en nuestros datos tiene dos funciones principales. Por un lado, complementar las columnas vertebrales estudiadas, pues de esta manera se pueden predecir los valores de tamaño de las vértebras no incluidas mediante el modelo ajustado (Capítulo III). Por otro lado, como la comparación cuantitativa entre de curvas requiere el mismo número de *landmarks* (en este caso *landmarks* de trayectoria), GAM nos da la posibilidad de volver a muestrear a lo largo de cada curva eligiendo el mismo número de puntos cuyos valores se predicen por el modelo estimado (Capítulo V).

La influencia del tamaño en el esqueleto axial de las víboras

En el presente capítulo se manejan tres tipos de tamaño relevantes a la organización del esqueleto axial en la región precloacal de las víboras, a saber, el tamaño vertebral, el número de vértebras y el tamaño corporal. Mientras que el primero se refiere a la vértebra como unidad los dos últimos reconocen como unidades los individuos. Esta dicotomía se traduce en dos distintos bloques metodológicos desarrollados a lo largo de este capítulo (Figura 3.1).

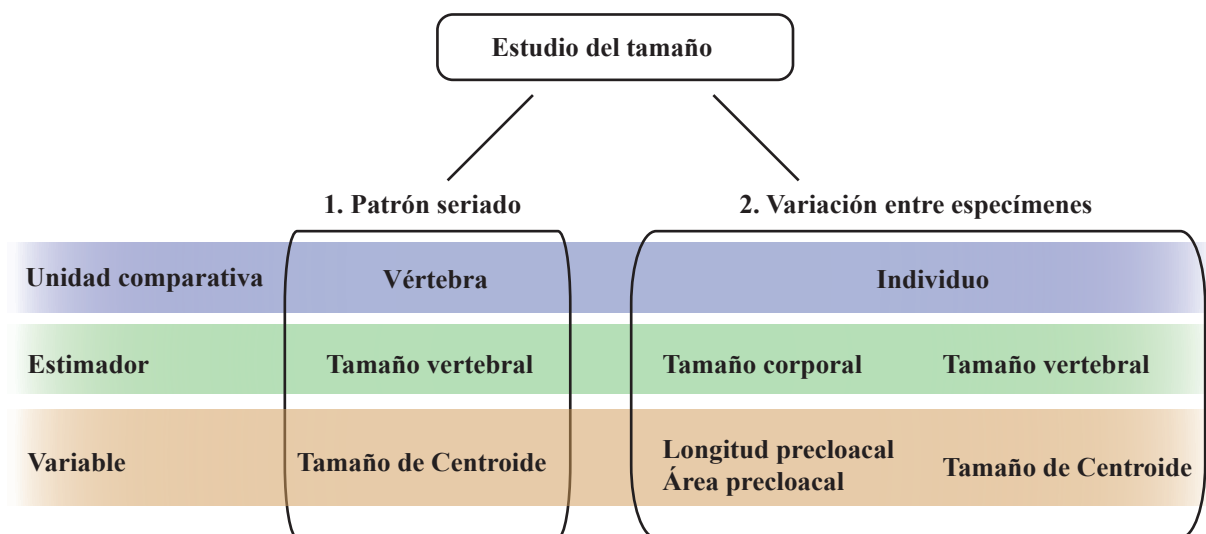


Figura 3.1: Esquema que muestra la aproximación metodológica para el estudio del tamaño en las víboras. El primer bloque trata de explorar el patrón seriado del tamaño vertebral a lo largo de la región precloacal. Las unidades de comparación en este bloque son las vértebras del mismo individuo y su tamaño se estima mediante el tamaño de centroide. En el segundo bloque los que se comparan son los individuos. En este caso cada individuo se identifica por un tamaño corporal (longitud y área precloacal), el número de vértebras precloacales o algún valor de relevancia que se refiere al tamaño vertebral.

Por un lado se realiza un estudio de la variabilidad del tamaño vertebral que tiene carácter intracolumnar. Es decir, lo que se explora es el patrón seriado del tamaño vertebral a lo largo de la región precloacal en los distintos individuos.



El segundo tipo de resultados obtenidos en el presente capítulo tratan los individuos como unidades. De esta manera se pueden ver las relaciones que subyacen entre el número de vértebras por un lado y por otro lado un valor estadístico descriptivo del tamaño vertebral para cada individuo y su tamaño corporal. Nuestros resultados revelan la relación entre dichas modificaciones mediante ajustes estadísticos. No obstante este tipo de estudio comparativo requiere unas consideraciones metodológicas desarrolladas en el *Box 3.1*.

BOX 3.1: La estimación de los tamaños vertebrales ausentes

Mientras que al analizar individuos por separado (como es el caso del primer tipo de resultados) las diferencias en el número de vértebras muestreadas no afecta a los resultados teniendo una muestra significativa, en el segundo bloque se hace una comparación directa y estadística en el conjunto de los especímenes, requiriendo de esta manera una comparación entre la totalidad de las vértebras por ejemplar. Pues utilizar una muestra menor tiene como posible consecuencia la sobrestimación de los estadísticos de dispersión como la variación del tamaño vertebral.

Sin embargo, en este estudio no fue posible la digitalización de todas las vértebras de cada individuo (véase *Material y Métodos*). Por eso, los intervalos sin muestrear en cada víbora se rellenan con los valores calculados por el modelo. Así que, usando la posición ordinal como variable independiente y el tamaño vertebral como variable dependiente se genera el modelo que describe el patrón seriado del tamaño vertebral con la aplicación de los GAM. Posteriormente el modelo se usa para calcular los tamaños vertebrales ausentes (Figura B3.1).

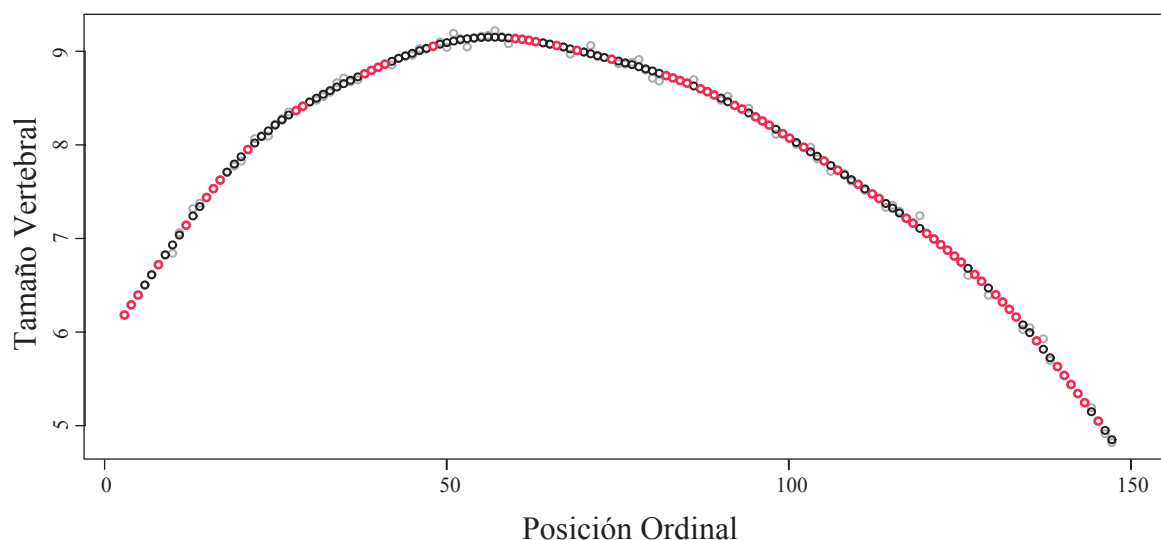


Figura B3.1: Reconstrucción del patrón seriado del tamaño vertebral a lo largo de la región precloacal en la *V. ammodytes c.* Los valores reales del tamaño de centroide se representan por los puntos grises mientras que los esperados por el GAM se representan como negros. Según este modelo, además, se calculan los valores de tamaño que tendrían las vértebras ausentes (puntos rojos). Hay que mencionar que este es el espécimen peor muestreado en lo que concierne al porcentaje de vértebras precloacales analizadas respecto a su número total. Mientras que todos los valores que faltan se calculan interpolando los valores adyacentes este no es el caso en las más anteriores, donde se extrapola el patrón encontrado posteriormente. Hecho que podría suponer un problema en esqueletos donde falta gran parte de las vértebras extremas.



En concreto, la correlación positiva entre el número de vértebras y el tamaño corporal se denomina como *pleomerismo* (Lindsey, 1975). Esta primera descripción del fenómeno se realizó en peces, mientras que Lindell (1994) lo confirmó también en caso de las víboras. A continuación, se evalúa la relación entre número de vértebras y el tamaño del cuerpo. Como estimador del tamaño se ha utilizado en varias publicaciones la longitud entre el cráneo y la cloaca (Lindell, 1994; Head y Polly, 2007). Aquí, la estimación del tamaño del cuerpo se hace utilizando la longitud total de la región precloacal es decir mediante la suma de las longitudes de las vértebras y además la suma de los tamaños vertebrales.

La manera en que la variabilidad de uno de estos parámetros pueda afectar a otro es de gran relevancia para entender la organización del esqueleto axial de las serpientes y en general de los vertebrados sin extremidades. Pues, como ya hemos visto (véase *Introducción*) el alargamiento es una modificación estructural que ocurre en todos los vertebrados sin extremidad. El estudio de la conducta de estos parámetros nos ayuda a comprender cómo actúa el mecanismo de alargamiento y cuales son algunas de sus consecuencias en los vertebrados.

Resultados

1. El patrón seriado del tamaño vertebral

Dicho análisis se lleva acabo con el uso del tamaño de centroide de cada vertebra y su posición ordinal a lo largo de la región precloacal (véase *Material y Métodos*). En la gráfica de la figura 3.2, se pueden visualizar los tamaños de todas las vértebras analizadas. Las vértebras pertenecientes al mismo individuo están representadas con el mismo color. Principalmente, es destacable el hecho de que el tamaño vertebral está distribuido como una campana a lo largo del esqueleto axial. Tras su máximo valor desciende sutilmente hasta las vertebra más posteriores donde se observa el tamaño vertebral mínimo.

En términos absolutos (Figura 3.2a y b), se pueden distinguir dos zonas de tamaño, a saber, las vértebras pequeñas que pertenecen a los complejos de víboras europeas (“*berus*” y “*aspis*”) y las de tamaño grande que corresponden a las víboras asiáticas (orientales y *Daboia*). Dichos dos bloques están relativamente bien diferenciados, dejando una zona vacía que correspondería a tamaños intermedios en el centro de la serie. Esto quiere decir que las vértebras centrales no pueden obtener un tamaño “intermedio”.

Cuando lo que se estudia es el tamaño relativo de las vértebras (Figura 3.2c y d) se observa en gran medida un solapamiento de los patrones para todas las víboras con excepción la *V. xanthina* (parcialmente). Esto significa que el patrón seriado del tamaño relativo vertebral es similar en todas las víboras frente a lo que se observa con los tamaños absolutos. Además, el análisis del tamaño relativo nos dice que dicho patrón es común en todas las víboras hasta

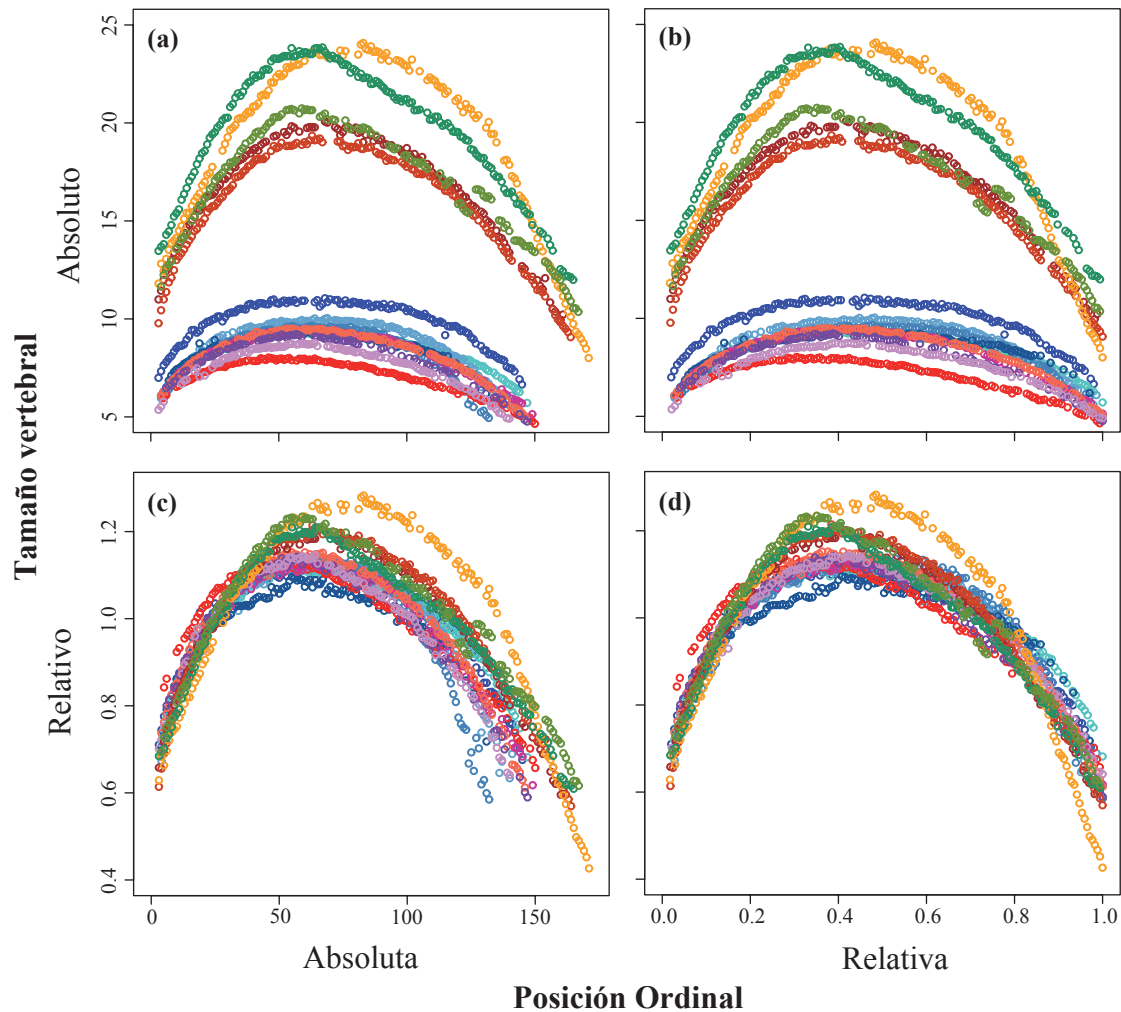


Figura 3.2: El patrón seriado del tamaño vertebral a lo largo de la región preloacal en las víboras estudiadas. Nótese la influencia de la posición ordinal absoluta (a y c) y relativa (b y d) respecto al tamaño vertebral absoluto (a y b) y relativo (c y d). Este patrón seriado en todos los

casos sigue la distribución de una campana cuyo máximo global se localiza antes de la mitad de la región. Los datos pertenecientes al mismo individuo se representan por el mismo color según la leyenda.

la vértebra de máximo tamaño aproximadamente (Figura 3.2c). A partir de este punto la tasa de disminución de los valores relativos del tamaño para cada vértebra de la serie depende de la longitud de la columna, a saber, cuanto mas larga la región preloacal menos tasa de reducción. Consecuencia de esto es que las vértebras más posteriores tengan, aproximadamente, el mismo tamaño relativo (de nuevo la excepción es *V. xanthina*). No obstante, al estandarizar las longitudes (Figura 3.2d) tiene lugar una casi absoluta coincidencia de los patrones. Así, el tamaño vertebral máximo se obtiene un poco antes de la mitad de la región preloacal. Dicha coincidencia, significa que el patrón seriado del tamaño vertebral a lo largo de la columna se afecta por el número de vértebras si y solo si tenemos en cuenta sus valores absolutos.



2. La variación del tamaño entre especímenes

A. Pleomerismo: cómo el número de vértebras influye el tamaño corporal

El pleomerismo se refiere a la relación entre el número de vértebras, por un lado, y el tamaño corporal por otro. En el presente estudio la estimación del último parámetro se materializa mediante dos variables. Por un lado, tenemos la *longitud precloacal* que se halla sumando las longitudes de las vértebras y el área *precloacal* que es la suma de los tamaños vertebrales (Figura 3.3).

La relación entre el número de vértebras precloacales y la longitud precloacal se puede ver en la figura 3.3a. Dicha figura revela la presencia de dos conjuntos: las víboras europeas y las asiáticas. Discriminadas a partir del número de vértebras y la longitud estimada. Según este esquema las europeas tienen un número de vértebras y longitud precloacal menores. El resultado es muy similar también en lo que se refiere a la relación entre el número de vértebras precloacales y el área precloacal, como se puede apreciar en la figura 3.3b.

El modelo que mejor se ajusta a los dos patrones de variación (longitud y área precloacal) es el resultante de la regresión segmentada (véase *Material y Métodos*). Con este modelo se explica un porcentaje muy alto de la varianza del tamaño corporal por el número de vértebras. Así en el caso de la longitud es $R^2=0,948$ y para el área precloacal es $R^2=0,960$.

En ambos casos el punto de quiebra (el valor de la variable independiente que caracteriza el límite entre dos modelos lineales distintos) se encuentra aproximadamente en la vértebra #151. Valores menores de este incluyen exclusivamente a las formas europeas y valores mayores a las asiáticas. En el caso de las víboras europeas el aumento del número de vértebras precloacales influye poco en la variación tanto de la longitud como del área precloacal. Pues el modelo lineal que precede el punto de quiebra para ambas variables se caracteriza por una pendiente igual a 1,631 en el caso de la longitud y 7,95 en el caso del área.

Cuando el número de vértebras precloacales de una de las víboras analizadas supera las 151, puede pertenecer sólo a las asiáticas. En este grupo cambia la relación entre número de vértebras y tamaño corporal. El modelo lineal que caracteriza las formas asiáticas hace patente una clara relación positiva entre dichas variables. La pendiente de la línea ajustada entre el tamaño corporal y el número de vértebras para este grupo es de 33,493 para la longitud y 98,487 para el área precloacal. En lo que se refiere a la relación entre la longitud y el área precloacal (Figura 3.3c) se ve que es lineal para todos los ofidios analizados ($y=2.775x$; $r=0.996$, $p<0.001$).

Todo lo anteriormente desarrollado nos hace patente que el grado de influencia que puede ejercer el número de vértebras al tamaño corporal (tanto longitud como área precloacal) de las víboras varía entre las especies e incluso entre los ejemplares. En concreto, se aprecia que



el aumento de vértebras precloacales en el esqueleto de las víboras europeas apenas influye en su tamaño corporal. Mientras que el grado de pleomerismo se dispara en el caso de las asiáticas. Construccionalmente esto significa que la relación positiva entre número de vértebras y tamaño corporal no ocurre hasta un umbral que, estadísticamente corresponde a la vértebra precloacal # 151.

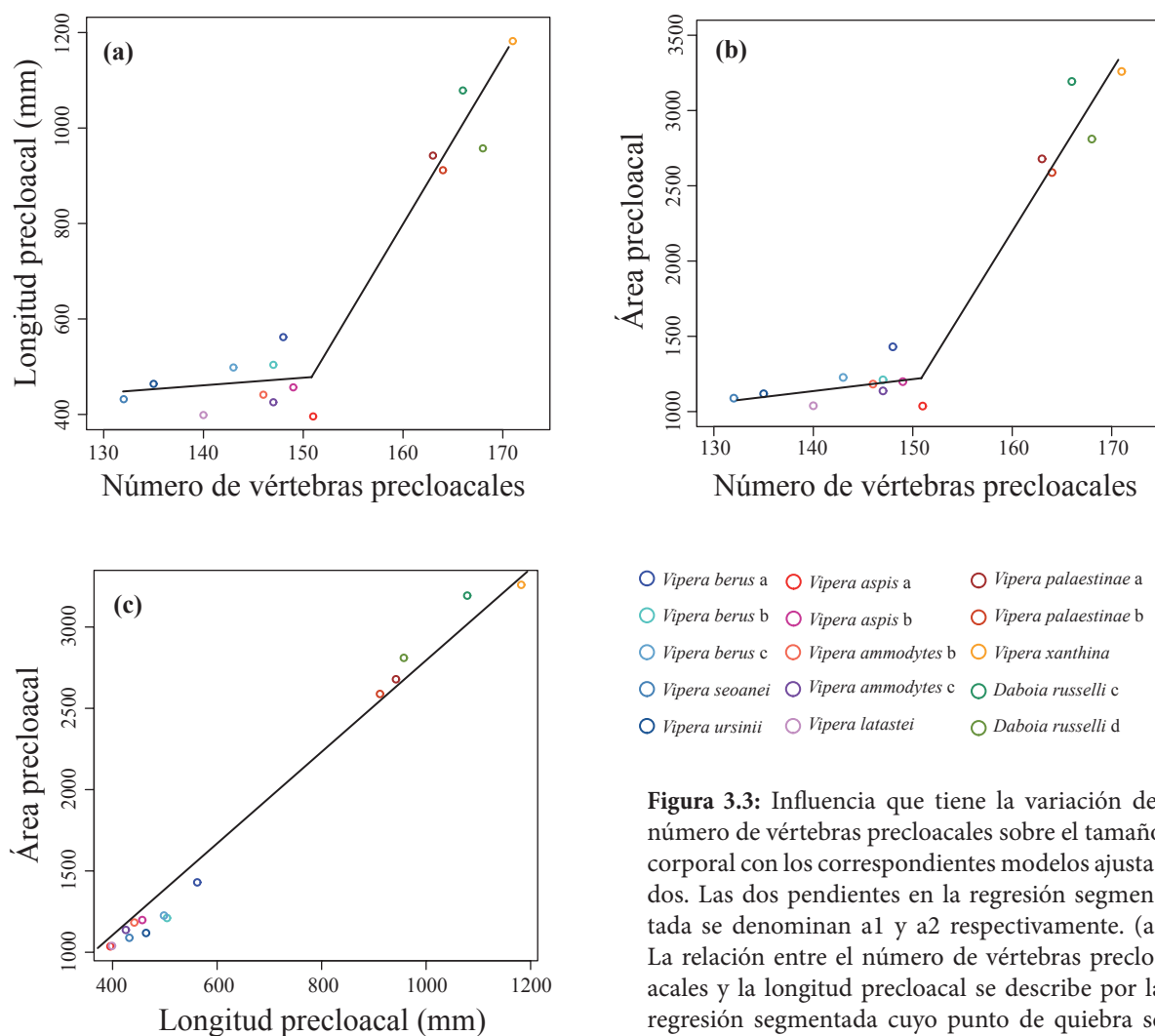


Figura 3.3: Influencia que tiene la variación del número de vértebras precloacales sobre el tamaño corporal con los correspondientes modelos ajustados. Las dos pendientes en la regresión segmentada se denominan a_1 y a_2 respectivamente. (a) La relación entre el número de vértebras precloacales y la longitud precloacal se describe por la regresión segmentada cuyo punto de quiebra se localiza en torno a la vértebra #151 ($R^2 = 0,948$;

$a_1 = 1,63$ $a_2 = 33,49$). (b) El mismo tipo de regresión explica también la relación entre número de vértebras y área precloacal con el mismo punto de transición ($R^2 = 0,960$; $a_1 = 7,95$ $a_2 = 98,49$). (c) La recta que se ajusta a las variables de la longitud precloacal y el área precloacal indica poca influencia de la primera sobre la última ($r = 0,996$, $a = 2,77$).



B. La influencia del número de vértebras al tamaño vertebral

A continuación se estudia la relación que guarda el número de vértebras precloacales de un espécimen con distintos valores del tamaño vertebral (Figura 3.4). Estos valores relevantes, aparte del *tamaño vertebral medio*, incluyen el *tamaño de la vértebra #3* (la primera vértebra digitalizada para todos los esqueletos) y valores concernientes a la variabilidad del tamaño a lo largo de cada región precloacal. Entre estos últimos se emplean por un lado el *tamaño vertebral mínimo y máximo* y por otro lado la *variación* del tamaño vertebral y su *coeficiente*.

En la figura 3.4a se puede ver que el tamaño vertebral medio se influye por el número de vértebras siguiendo una línea segmentada ($R^2=0.939$), cuyo punto de quiebra está en torno a la vértebra #151. En este caso, cualquier cambio del número de vértebras inferior a este valor tiene nula influencia al tamaño medio de las vértebras precloacales. De modo que las víboras europeas tienen el mismo tamaño vertebral medio y aunque en las asiáticas esta relación es positiva, resulta muy baja (la pendiente es 0,589).

Tanto en el caso de la primera vértebra considerada (la #3) como con la de tamaño mínimo (que siempre coincide con la última de la región precloacal) se establece una línea que pasa por el origen (con $R^2=0,928$ y $0,93$ respectivamente) entre el número de vértebras precloacales y su tamaño vertebral (Figura 3.4b y c). Las pendientes de estas dos últimas rectas son muy bajas (0,054 y 0,046 respectivamente), haciéndose patente, la independencia entre número de vértebras precloacales y el tamaño vertebral en ambos casos.

El tamaño vertebral máximo, por el contrario, responde a los cambios del número de vértebras de modo heterogéneo (Figura 3.4d). Pues, el ajuste corresponde al de una regresión segmentada ($R^2= 0.953$). En este caso también el punto de quiebra se halla alrededor de la vértebra #151. El segmento que precede dicha posición ordinal hace patente la independencia del número de vértebras con el tamaño vertebral máximo (0,004), mientras que para individuos con número de vértebras mayores estos dos parámetros están relacionados positivamente (0,760).

Por último se estudia la manera en que responde la variabilidad del tamaño vertebral a los cambios en el número de vértebras. Así, por un lado la variación del tamaño vertebral (Figura 3.4e) aumenta siguiendo una curva exponencial al aumento del número de vértebras ($R^2=0,934$). Mientras que en el caso del coeficiente de variación (donde se corrigen las diferencias de tamaños medios) el modelo es lineal (Figura 3.4f) que pasa por el origen ($R^2=0,964$) con una pendiente significativamente baja (0,097).

De esta manera queda demostrado que el tamaño de las vértebras extremas de la región precloacal (la última y la #3) no varía significativamente entre ejemplares con distintos números de vértebras y consecuentemente entre las distintas especies. Sin embargo, mientras que el tamaño vertebral mínimo no se influye por el número de vértebras precloacales el

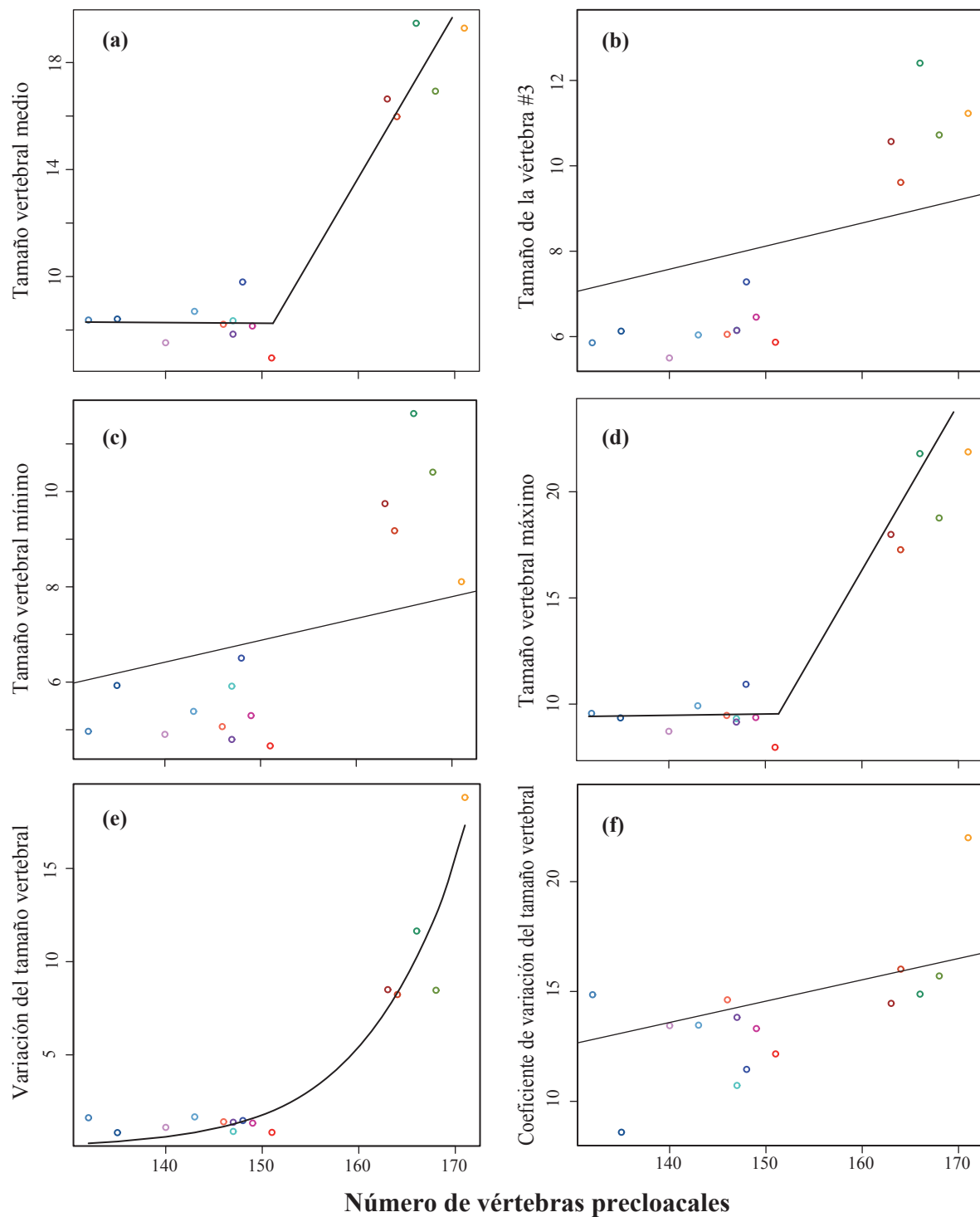


Figura 3.4: Relación funcional entre el número de vértebras precloacales y distintos parámetros del tamaño vertebral. La información acerca de los ajustes incluye lo bien que se ajustan los modelos (R^2) y la pendiente en caso de un modelo lineal (a y si es regresión segmentada a_1 , a_2). (a) El tamaño vertebral medio sigue una regresión segmentada con punto de quiebra la vértebra #151 ($R^2=0,939$; $a_1=-0,002$ $a_2=0,589$). (b) La relación lineal con el tamaño vertebral de la vértebra #3 ($R^2=0,928$; $a=0,054$). (c) La relación lineal con el tamaño vertebral mínimo ($R^2=0,930$; $a=0,046$). (d) Para el tamaño vertebral máximo la regresión se segmenta en la vértebra #151 ($R^2=0,953$; $a_1=0,004$ $a_2=0,760$). (e) La variación del tamaño vertebral responde exponencialmente ($R^2=0,934$). Mientras que el coeficiente de esta última (f) sigue una recta ($R^2=0,964$; $a=0,097$).

con punto de quiebra la vértebra #151 ($R^2=0,939$; $a_1=-0,002$ $a_2=0,589$). (b) La relación lineal con el tamaño vertebral de la vértebra #3 ($R^2=0,928$; $a=0,054$). (c) La relación lineal con el tamaño vertebral mínimo ($R^2=0,930$; $a=0,046$). (d) Para el tamaño vertebral máximo la regresión se segmenta en la vértebra #151 ($R^2=0,953$; $a_1=0,004$ $a_2=0,760$). (e) La variación del tamaño vertebral responde exponencialmente ($R^2=0,934$). Mientras que el coeficiente de esta última (f) sigue una recta ($R^2=0,964$; $a=0,097$).



máximo obtenido se influye levemente por el aumento de los elementos precloacales solamente en las asiáticas. Estas observaciones explican la relación exponencial que subyace entre el número de vértebras y la variación del tamaño vertebral. Una variación que depende mucho del tamaño vertebral medio.

Discusión

En el presente capítulo se explora el papel del tamaño en la organización morfológica del esqueleto axial de las víboras. Las aportaciones de este capítulo se encuentran tanto a nivel metodológico como a nivel de resultados concernientes la región precloacal. En concreto lo que se analizó en este último, aparte del patrón seriado del tamaño vertebral, fueron las relaciones entre el número de vértebras precloacales y el tamaño tanto corporal como vertebral.

En lo que se refiere a la metodología, dos puntos principalmente se pueden destacar. Por un lado, es el uso del tamaño de centroide como estimador del tamaño vertebral, pues los estudios anteriores que se realizaron dentro del marco de la morfometría tradicional hacen uso de medidas lineales (e.g. Szyndlar, 1984). Sin embargo, el tamaño de centroide es un estimador más fiable que los anteriores, ya que se refiere al área lateral de la vértebra y no solamente a una dimensión suya. Por otro lado es la modelización realizada del patrón seriado del tamaño vertebral aplicando los GAM y la predicción de los tamaños ausentes. Una manera de completar la serie sin asunciones anteriores acerca del tipo de ajuste.

Los resultados obtenidos se refieren a dos tipos de variabilidad, a saber, la que se encuentra dentro del mismo individuo entre las vértebras y la que se halla entre especímenes. En lo que concierne al primer tipo de variación nos referimos al patrón seriado del tamaño vertebral cuyas diferencias entre los individuos dependen principalmente al tamaño vertebral medio de cada espécimen cuya variación entre los complejos resulta discontinua. Sin embargo, tanto el grado de diferenciación del tamaño vertebral dentro de la misma serie como su variación entre especímenes depende de la tasa de crecimiento. Esta última se determina por el número de vértebras, un factor crucial en el alargamiento de las víboras. Aunque nuestros resultados confirman su importancia solamente en el caso de las asiáticas.

1. La variación intracolumnar del tamaño vertebral

A. Patrón seriado del tamaño vertebral

Plétora de trabajos anteriores han estudiado indirectamente la variación del tamaño vertebral a lo largo de la columna. La mayoría de estos trabajos lo hicieron cuantitativamente, dentro del ámbito de la morfometría tradicional (Johnson, 1955; Thireau, 1967; Szyndlar, 1984). Así que



su estudio se basaba en variaciones de medidas longitudinales de las vértebras a lo largo del esqueleto axial o bien sus ratios. En el primer caso lo que se mira esencialmente es el tamaño de la vértebra (ya que una distancia de un objeto es una estimación de su tamaño) y en el último son las proporciones (variable que más se aproxima a la geometría vertebral).

En el presente estudio el tamaño de la vértebra se estima mediante el tamaño de centroide, la variable que se usa como estimación del tamaño de un objeto en morfometría geométrica. Dicha variable parece reflejar mejor el área lateral de la vértebra, pues su conducta es totalmente independiente a la geometría vertebral. Aparte de una estimación más adecuada para el tamaño, en nuestro análisis las variables tamaño y posición ordinal se transforman de tal manera que permitan detectar similitudes/diferencias entre los patrones seriados. Así al relativizar tanto el tamaño vertebral como el número de vértebras, se pueden comparar los patrones independientemente de las diferencias en tamaño vertebral o de columna (Tabla 3.1).

		Posición ordinal	
		Absoluta	Relativa
Tamaño	Absoluto	Datos reales	Patrones de cambio que no dependen del número de las vértebras precloacales
	Relativo	Patrones de cambio que no dependen del tamaño medio	Patrones de cambio independientes del número de vértebras precloacales y del tamaño medio

Tabla 3.1: Esquema que muestra la lectura de los resultados según las variables empleadas, a saber: los valores tanto absolutos como relativos del tamaño vertebral y de la posición ordinal.

En gran medida nuestros resultados concuerdan con las aproximaciones basadas en la morfometría tradicional, aunque arrojan información más detallada. En líneas generales el patrón seriado del tamaño vertebral a lo largo de la región precloacal sigue una campana tipo gaussiano (Figura 3.2). La variabilidad de este patrón seriado entre los especímenes se debe principalmente al tamaño vertebral medio (Figura 3.2c) y al número de vértebras precloacales (Figura 3.2d).

En cada ejemplar los tamaños mínimos se obtienen para la tercera y la última vértebra, con la última obteniendo siempre el mínimo tamaño vertebral. Mientras que los valores máximos se aprecian en torno al 40% de la región precloacal (el coeficiente de variación de la posición relativa del tamaño máximo es significativamente menor que el de la posición ordinal absoluta).



B. La contribución del crecimiento diferencial

La diferenciación del tamaño vertebral entre vértebras del mismo individuo adulto se pueden deber o bien a diferencias del tamaño inicial o diferentes tasas de crecimiento o incluso ambos. Para averiguar las condiciones iniciales tenemos que mirar a la somitogénesis y en concreto al mecanismo que la explica, el *clock-and-wavefront* (Dequeant y Pourquie, 2008).

El mecanismo de *clock-and-wavefront* explica la generación de somitas basándose en eventos periódicos catastróficos a nivel celular a lo largo del mesodermo presomítico (véase *Introducción*). No obstante dicha periodicidad determina el tamaño de un somita y consecuentemente el tamaño inicial de una vértebra. Por tanto, como la muestra de nuestro estudio carece de juveniles, la exploración de posibles variaciones del tamaño inicial de las vértebras se traslada a la cuestión de la variación de la periodicidad de estos eventos catastróficos durante la somitogénesis a lo largo de la región precloacal.

Gomez *et al.* (2008), basándose en el mecanismo *clock-and-wavefront*, comparan la somitogénesis entre serpientes y otros vertebrados. En este estudio se observa que la frecuencia de oscilación en las serpientes es mucho más alta que en el resto, teniendo así como consecuencia el número alto de vértebras. Sin embargo, la somitogénesis no se realiza al mismo tiempo a lo largo del eje axial, sino es un proceso con duración cuyo principio es el cráneo y final la cola (Gilbert, 2003).

En su estudio Gomez *et al.* (op. cit) observan la variación del tamaño del somito creado según el porcentaje de somitos que ya están creados. Según dicho estudio, el tamaño de los somitos que pertenecen al primer 70% de su número total no varía (Figura 3.5). Por tanto, teniendo en cuenta que el proceso de somitogénesis empieza desde el cráneo para dirigirse posteriormente y que en el caso de la serpiente estudiada (*Pantherophis guttatus*) el 70% de los somitos coincide con el número de las vértebras precloacales, es razonable afirmar que la variación del tamaño vertebral inicial a lo largo de la región precloacal de los ofidios es insignificante en un juvenil.

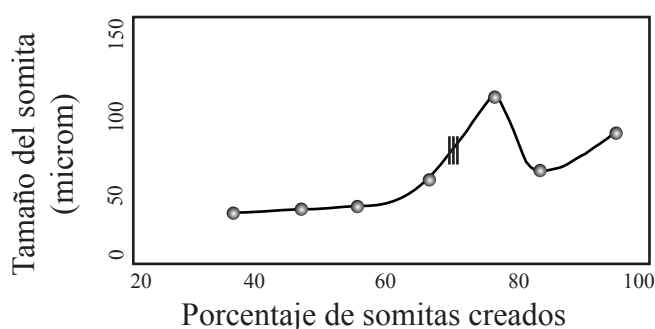


Figura 3.5: Gráfica que muestra la variación del tamaño de los somitos creados durante la somitogénesis siguiendo el mecanismo clock-and-wavefront en la serpiente *Pantherophis guttatus*. Las barras verticales representan el porcentaje de somitos que corresponden a la región precloacal de dicha serpiente. Se observa que prácticamente el tamaño de los somitos generados no varía a lo largo de esta región mientras que posteriormente fluctúa bastante (modificado de la Figura 4e de Gómez *et al.*, 2008).



Por lo tanto, cualquier diferencia de tamaño vertebral observada a lo largo de la región precloacal debería ser resultado de una tasa diferencial de crecimiento a lo largo de esta región durante el desarrollo. En este contexto, se deduce que la tasa de crecimiento para las vértebras centrales (alrededor del 40% de la longitud de la región precloacal) es la máxima. Por el contrario, tanto la tercera vértebra como la última presentan un crecimiento relativo muy limitado. Entre medias se observa un gradiente continuo de tasa de crecimiento.

2. El tamaño vertebral como identificador

En el caso del registro fósil de las víboras que adolece de elementos craneales por su fragilidad (Szyndlar y Rage, 2002), las identificaciones se limitan casi exclusivamente a las vértebras que en su gran mayoría aparecen aisladas.

Así para el trabajo del paleofidíologo, el primer rasgo que se evalúa de una vértebra que pertenece a las especies del género *Vipera s.l.* es el tamaño. Pues tradicionalmente la secuencia “*berus*” – “*aspis*” – asiáticas refleja un aumento gradual del tamaño vertebral (Venczel, 1997; Szyndlar y Rage, 1999; Szyndlar, 2005). Sin embargo, en la práctica, los estudiosos parecen más dispuestos a limitar el rasgo del tamaño vertebral sólo para separar entre víboras europeas y asiáticas (Zerova, 1992; Ivanov, 2000; Rage y Bailon, 2005). Mientras que las proporciones (es decir la forma) resulta ser la única herramienta fiable a la hora de identificar de modo preciso las especies sobre todo si se trata de víboras europeas (Szyndlar, 1998, Venczel, 2001; Delfino, 2004).

Nuestros resultados rechazan la perspectiva gradualista, observando una discontinuidad en lo concerniente al tamaño vertebral entre las víboras europeas y asiáticas. Esto se puede visualizar tanto en los patrones seriados que forman dos bloques (Figura 3.2a y b) como en el caso de la eliminación de la variación intracolumnar con el uso del tamaño vertebral medio para cada esqueleto (Figura 3.4a). De esta manera hay una discriminación clara entre las vértebras pequeñas pertenecientes a las víboras europeas y las vértebras grandes de las víboras asiáticas.

En lo que se refiere a la variación del tamaño vertebral dentro del mismo complejo los resultados no aclaran mucho. Pues, dentro de los dos bloques, no se puede observar ninguna diferencia significativa entre especies y ni siquiera entre complejos (Figura 3.2a y 3.4a). Por tanto, aparentemente el tamaño vertebral no es de gran ayuda a la hora de intentar identificar a nivel específico o de complejo.



3. La influencia del número de vértebras

A. Número y tamaño de vértebras

El número de los somitas varía significativamente entre los distintos grupos de vertebrados (Muller *et al.*, 2010). En el extremo de los vertebrados se colocan las serpientes con el máximo número de vértebras (Vonk y Richardson, 2008). La adquisición de un alto número de elementos vertebrales conlleva un alargamiento del cuerpo que está vinculado con la ausencia de extremidades (Gans, 1962; Hoffstetter y Gasc, 1969). Un fenómeno observado en varios linajes de reptiles y que está relacionado con la expansión de las regiones de expresión de los genes *Hox* y la consecuente homogeneización del esqueleto axial (Cohn y Tickle, 1999).

Como ya se ha mencionado la somitogénesis en los vertebrados y consecuentemente en los ofidios se puede describir mediante el mecanismo *clock-and-wavefront* (Dequeant y Pourquie, 2008). Este mecanismo determina, mediante la frecuencia de su oscilador, tanto el tamaño de los somitas creados como su número. El estudio comparativo realizado por Gomez *et al.* (2008) entre una serpiente y otros vertebrados (pez cebra, ratón y pollo) revela que la frecuencia de la oscilación en las serpientes es cuatro veces mayor que la del resto de los animales estudiados en el experimento. Hecho que por un lado explica el número alto de vértebras en las serpientes y por otro lado su tamaño inicial relativamente reducido.

Sin embargo, se desconoce si la frecuencia anteriormente mencionada varía entre especies de serpientes, y en concreto para nuestro caso en las víboras. La afirmación de esto significaría que los tamaños vertebrales de partida entre distintos ofidios son diferentes. Por otro lado, este tamaño vertebral inicial no puede ser mayor del tamaño vertebral mínimo de cada espécimen adulto. Ahora bien, teniendo en cuenta esto último y conociendo que la variación de los tamaños vertebrales mínimos entre especies es muy pequeña (Figura 3.4c) se puede deducir que aunque haya una diferencia interespecífica del tamaño vertebral inicial (atendiendo al conjunto de las víboras) esta será insignificante. Esto a su vez implicaría que la variación observada en los tamaños vertebrales entre las distintas especies (o complejos) se ha producido casi exclusivamente a partir de las diferencias en la tasa de crecimiento de las vértebras.

Mientras que las dos vértebras de tamaño mínimo de la región precloacal (la primera y la última) no se ven influyedas por el número de vértebras no pasa lo mismo con el grado de diferenciación de los tamaños vertebrales. Lo que ocurre en las víboras más grandes es que la tasa de crecimiento de las vértebras aumenta con el incremento en número de vértebras precloacales. Este hecho combinado con la estabilidad que presentan los tamaños vertebrales mínimos tiene como consecuencia el aumento también del tamaño vertebral medio.



B. Modelo construccional de la región precloacal en las víboras

En este capítulo se han llevado a cabo análisis y se han obtenido resultados que arrojan luz a todo lo concerniente al tamaño vertebral de la región precloacal en las víboras eurasiáticas. La lectura de estos resultados desde un punto de vista organizativo facilitan la propuesta de un modelo construccional para el esqueleto axial de este grupo.

Así, durante la ontogenia de una víbora, en lo que se refiere al tamaño vertebral, incluye el paso de una situación homogénea (todas las vértebras recién formadas en un juvenil tienen el mismo tamaño) a una diferenciación según la posición ordinal (Figura 3.6). Dicha diferenciación en los tamaños de las vértebras en el mismo ofidio surge como una consecuencia de la variación de la tasa de crecimiento a lo largo de la región precloacal. El estado resultante es un cambio gradual del tamaño vertebral cuyo máximo global se encuentra en el 40% de la región precloacal y sus mínimos en las vértebras extremas.

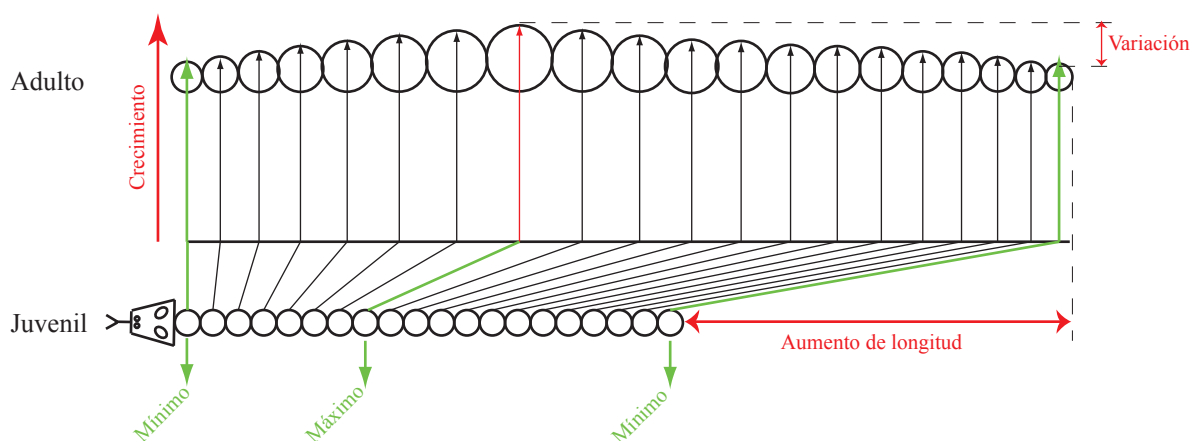


Figura 3.6: Esquema que resume los resultados más importantes de este capítulo concernientes al tamaño en las víboras. El esquema está centrado en la ontogenia y se muestra el número de vértebras precloacales, y la diferenciación intracolumnar de los tamaños vertebrales. Lo que está marcado en verde se refiere a parámetros que no se ven afectados por el número de vértebras: la posición ordinal relativa de la vértebra más grande y el crecimiento de las vértebras más pequeñas. Mientras que el rojo se refiere a lo que está influenciado por el número de vértebras, cuando este número supera las 150. En esta situación aumenta principalmente, la tasa de crecimiento medio y máxima, la longitud precloacal y la variación del tamaño vertebral.

El grado de diferenciación del tamaño vertebral es comparable entre las víboras mientras el número de vértebras no sobrepasa el umbral de las 150 vértebras precloacales, como es el caso de las víboras europeas en el presente estudio. Mientras que este grado de diferenciación intracolumnar se ve directamente afectado y aumenta con el aumento del número de vértebras precloacales en el caso de las víboras asiáticas, donde el umbral de 151 vértebras precloacales se sobrepasa. Dicha variación del crecimiento de los tamaños vertebrales conllevan un aumento de la longitud, a saber, un proceso que explica el fenómeno del pleomerismo en las víboras asiáticas.



Todo lo anteriormente desarrollado, concuerda con la visión de Nilson y Andren (1986; p.14). Según estos estudiosos de víboras, la morfología de las víboras asiáticas se puede considerar como el resultado de una extrapolación (o continuación) de los procesos de desarrollo que se observan en las víboras más pequeñas, a saber, las europeas.

C. El fenómeno del pleomerismo en las víboras

El tamaño de las serpientes más derivadas depende de su número de vértebras (Lindell, 1994). Dicho fenómeno se denomina como *pleomerismo* y se refiere a la correlación positiva entre el número de las vértebras y el tamaño corporal (Lindsey, 1975). En el presente capítulo se analizó la relación entre el número de las vértebras precloacales y el tamaño de la precloaca que se comprende como longitud y área precloacal.

En líneas generales nuestros resultados revelan que la relación entre número de vértebras precloacales y tamaño corporal no son lineales (Figura 3.3). En concreto el modelo que mejor se ajusta es el de la regresión segmentada que separa claramente las víboras europeas de las asiáticas. Así que, mientras que el tamaño corporal de las víboras asiáticas se ve claramente afectado por las variaciones en el número de vértebras, el de las víboras europeas permanece constante.

Esto significa que se descarta parcialmente la afirmación sobre el alargamiento de los reptiles sin extremidades. Según esta, la estrategia principal de alargamiento en los ofidios se centra en el aumento del número de vértebras (Lindell, 1994; Richardson *et al.*, 1998). Lo que quiere decir esto es que el aumento del tamaño corporal y en concreto de la longitud se debe principalmente al aumento del número de vértebras. Según nuestros resultados esto es verdadero en el caso de las víboras asiáticas, mientras que en el caso de las europeas la variación del número de vértebras precloacales apenas afecta la longitud precloacal (Figura 3.3). Construccionalmente, la presencia de más de 151 vértebras aproximadamente corresponde a un evento catastrófico, donde el número de las vértebras precloacales empiezan a tomar el protagonismo a la hora de determinar la longitud corporal.

La separación de la conducta del sistema axial entre las europeas y las asiáticas es posible por el uso de la regresión segmentada para ajustar los datos. Este tipo de ajuste reconoce la presencia de un umbral que determina el punto donde se realiza un cambio abrupto en la conducta del sistema analizado. Este ajuste estadístico fue el mejor comparándolo con el lineal y el exponencial. La respuesta no lineal de los sistemas naturales a cambios graduales incluso hoy en día es difícil de racionalizarla. En el ámbito del tamaño en los ofidios, Head y Polly (2007) evalúan el gigantismo como una respuesta no lineal (en concreto dado el número de vértebras, en estos casos, se subestima el tamaño corporal). En nuestro estudio, desde esta perspectiva, las formas asiáticas se podrían considerar como gigantes. Sin embargo, no hay



datos de víboras del mismo número de vértebras que las asiáticas y que tengan el mismo tamaño corporal que las europeas.

Consideramos que la linealidad no es un requisito de una relación positiva de dos variables y por tanto en el caso del pleomerismo que nos concierne, la premisa de ajustarse a una línea es una condición suficiente (como el ajuste a una curva exponencial) y no necesaria. Aunque la conducta no lineal de los sistemas naturales no es inverosímil, su confirmación requiere una muestra de víboras más completa.

La variabilidad de la geometría vertebral en las víboras

El presente capítulo trata la geometría de las vértebras de las víboras analizadas. Nuestra atención se centra en la variabilidad de las geometrías vertebrales encontrada en este grupo. Esta variabilidad se puede descomponer en la variación encontrada a lo largo de cada esqueleto axial, definida aquí como patrón seriado y la que se encuentra entre los ejemplares que representan cada especie. Además, queremos saber cómo esta variabilidad de la geometría de las vértebras se relaciona con su tamaño.

La variabilidad de la geometría vertebral se puede apreciar en un morfoespacio cuya construcción se basa en la totalidad de la muestra. De esta manera, al reducir las dimensiones usando el PCA, se pueden ver las relaciones entre vértebras del mismo individuo, entre individuos y entre complejos. Una comprensión de la distribución relativa dentro de este morfoespacio se obtiene al descomponer estos distintos tipos de variabilidad.

Una manera de dividir la variabilidad en el morfoespacio de las geometrías vertebrales es en variación intra- y entre individuos. Como los objetos son vértebras, es decir estructuras seriadas, la variación intracolumnar se traslada al análisis del patrón seriado de la geometría vertebral para todos los individuos. Tal estudio, en el presente capítulo, se reduce a dos preguntas centrales que se responde: *dónde* y *cómo* cambia la geometría vertebral a lo largo de la región precloacal. Para esto se usan los PCs como variables geométricas. Así que, la variación de los valores de los PCs respecto la posición ordinal responden a la pregunta *dónde* y la interpretación física correspondiente de los PCs nos cuenta *cómo*.

Como en el caso del tamaño vertebral, lo que hace patente el patrón seriado se tiene que desaparecer a la hora de comparar individuos. Así que en este capítulo la variabilidad entre los individuos se realiza mediante la geometría vertebral. Para evitar la variación intracolumnar, el estudio de comparación se traslada a la variabilidad de las geometrías vertebrales típicas de cada individuo que son las geometrías vertebrales medias. Su variabilidad se refleja mediante su distribución relativa en el morfoespacio. Para visualizar dicha distribución se hace uso del MDS.



Como ya hemos visto en el capítulo anterior, el tamaño es un factor bastante importante en la organización del esqueleto axial de las víboras. Por tanto, tras analizar la variabilidad de la geometría de las vértebras, exploramos su relación con el tamaño. Este estudio (alométrico) arroja luz a las constricciones construccionales interpretándolas mediante la biomecánica de los ofidios.

Resultados

1. Superposición

Las configuraciones de las vértebras superpuestas pueden aportar información acerca de los objetos analizados, especialmente los que componen una serie. Así, la figura 4.1 refleja la manera que varía la geometría vertebral a lo largo de todas las especies incluidas. Con esta primera aproximación queda patente la similitud ante el patrón seriado de la geometría vertebral en los individuos de las distintas especies. Supuestamente esta variación intracolumnar no presenta ninguna discontinuidad, es decir, el cambio geométrico a lo largo de la región precloacal es gradual y aparentemente monótono. Dicho patrón se puede describir en el espacio físico, en líneas generales, como un aplastamiento dorsoventral acompañado de un estrechamiento anteroposterior de las vértebras al sentido caudal.

2. Análisis de Componentes Principales (PCA)

A. Dimensionalidad del morfoespacio

El PCA tiene como objetivo reducir la dimensionalidad del morfoespacio expresando los datos mediante nuevas dimensiones de la máxima posible varianza, ortogonales entre sí (los PCs). La Tabla 4.1 (y gráficamente la figura 4.2) muestra el porcentaje de varianza que se explica por los primeros PCs. Se observa que el PC1, que explica la máxima varianza, cubre aproximadamente el 74% de la varianza total de la muestra. Añadiendo los tres siguientes componentes el porcentaje se eleva a casi 80%, 85% y 88% respectivamente.

No obstante, como el PCA se aplica para toda la muestra, no se sabe si la elección de los PCs nos da también la suficiente información para cada espécimen. Esta información es de gran importancia para nuestro estudio ya que lo que se evalúa no es solamente la variabilidad global de la geometría vertebral sino también la que tiene lugar a lo largo del mismo espécimen. De esta manera se valora si los PCs elegidos para el estudio global son también adecuados para detectar el patrón seriado de la geometría vertebral. Teniendo esto en cuenta, en la figura 4.3 se puede ver la varianza que explica cada PC para cada individuo. Así, se puede ver que hay que tener en cuenta los cuatro primeros PCs ya que parte de la variación intracolumnar se explica por el PC4.

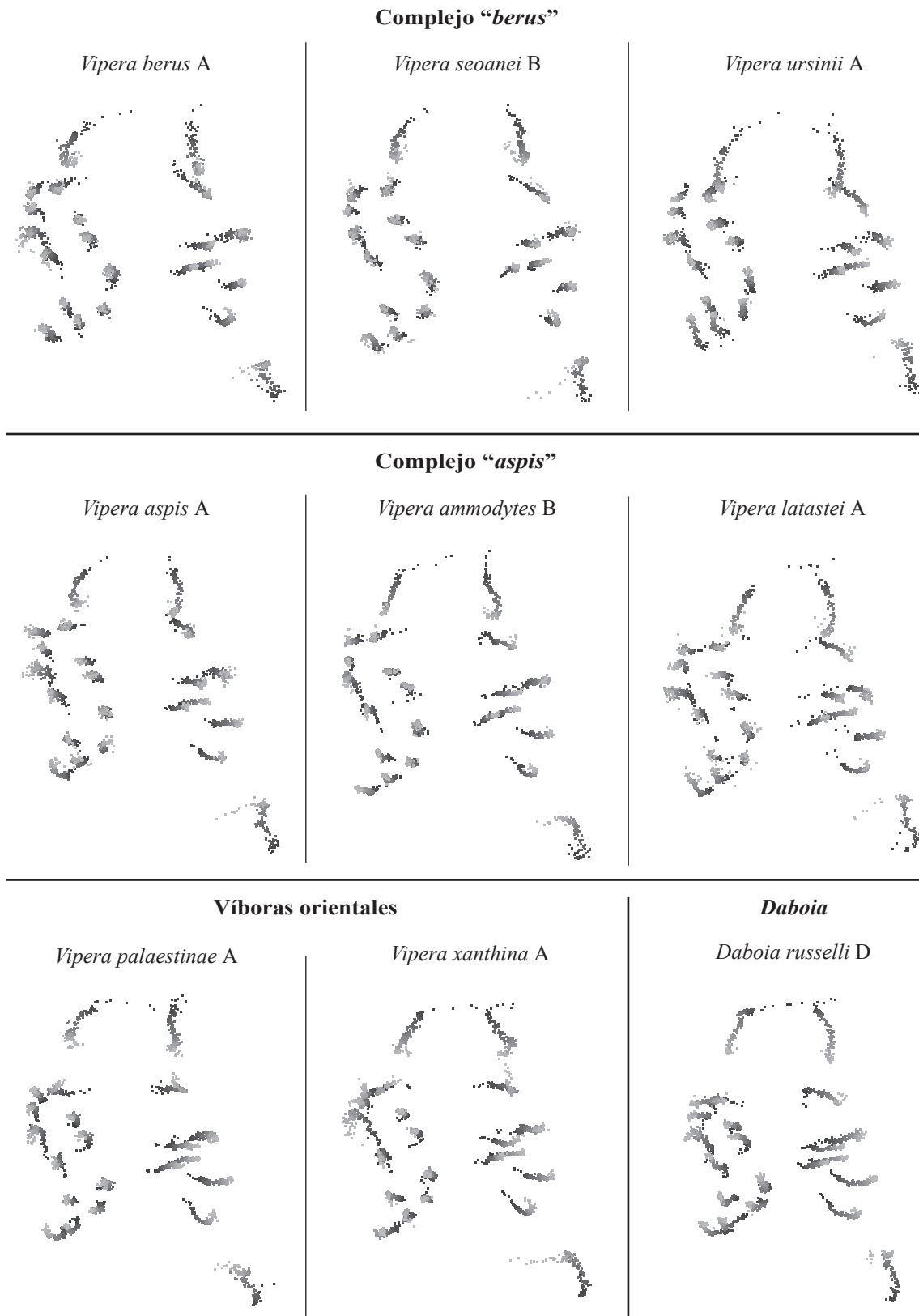


Figura 4.1: Las configuraciones de landmarks de las vértebras (vista lateral izquierda) pertenecientes a la misma columna vertebral superpuestas. Se muestra un individuo para cada especie. Cada configuración se muestra con landmarks del mismo color. El color de los landmarks pertenece a la escala de gris cuyo grado depende de la posición ordinal de la vértebra. Se sigue la escala de gris empezando con negro para las vértebras anteriores y cambiando hacia las posteriores a tonos más claros.



	Valor Propio	% Varianza explicada
PC1	2,21	74,02
PC2	0,17	5,63
PC3	0,15	4,98
PC4	0,11	3,53
PC5	0,06	2,15
PC6	0,04	1,36
PC7	0,04	1,32
PC8	0,03	0,92

Tabla 4.1: Tabla que muestra la varianza que cada uno de los primeros ocho PCs explica. Lo que figura en concreto es tanto al valor propio de cada PC como el porcentaje que este valor respecto a la varianza total representa.

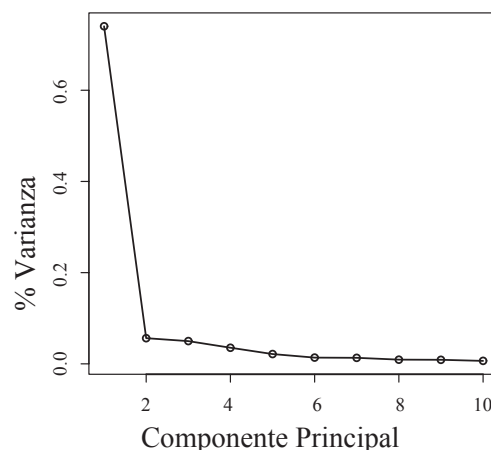


Figura 4.2: El gráfico de sedimentación para los primeros diez PCs del PCA de todas las vértebras, donde se refleja el porcentaje de varianza que cada uno de estos PCs explica respecto a la varianza total de la muestra. El PC1 explica un porcentaje considerablemente alto (aproximadamente el 74%) y junto con el PC2 supuestamente describen de una forma adecuada la totalidad de la muestra.

B. Interpretación física

Una de las ventajas más destacables de la morfometría geométrica es la posibilidad de visualizar la variación geométrica en el espacio físico. De esta manera, las dimensiones determinadas como PCs no reflejan vagas interpretaciones físicas, sino más bien deformaciones concretas en las configuraciones de los landmarks. El marco de dicha interpretación incluye a todos y sólo los landmarks digitalizados. Los movimientos de los landmarks se tienen que interpretar en relación con el resto de la configuración y nunca aislados.

Como se ha mencionado anteriormente cada dimensión del morfoespacio explica un cambio geométrico de las configuraciones (capítulo de *Material y Métodos*). Como la interpretación de los resultados del análisis es conveniente que se realice para las dimensiones del morfoespacio empírico que corresponden a la máxima varianza, en la figura 4.4 se pueden ver las deformaciones explicadas por los primeros cuatro PCs. Para cada uno de ellos dos deformaciones tienen lugar respecto a la configuración media, a saber, una hacia los valores positivos y otra hacia los negativos. Como dichas deformaciones son antitéticas, se describe la deformación geométrica de las configuraciones que tiene lugar sólo hacia un sentido.

Así que, a lo largo del PC1 (figura 4.4a) y hacia sus valores positivos, las vertebras cobran una geometría más estirada dorsoventralmente. En particular las espinas neurales se hacen más cortas anteroposteriormente y significativamente más altas. Otra estructura gravemente influida es la hipoapófisis cuya longitud, hacia los valores positivos, se aumenta y además se orienta más ventralmente. La orientación del proceso parapofisiario también se ve afectada hacia una dirección más ventral. Por último, el centro vertebral también se acorta anteroposteriormente.

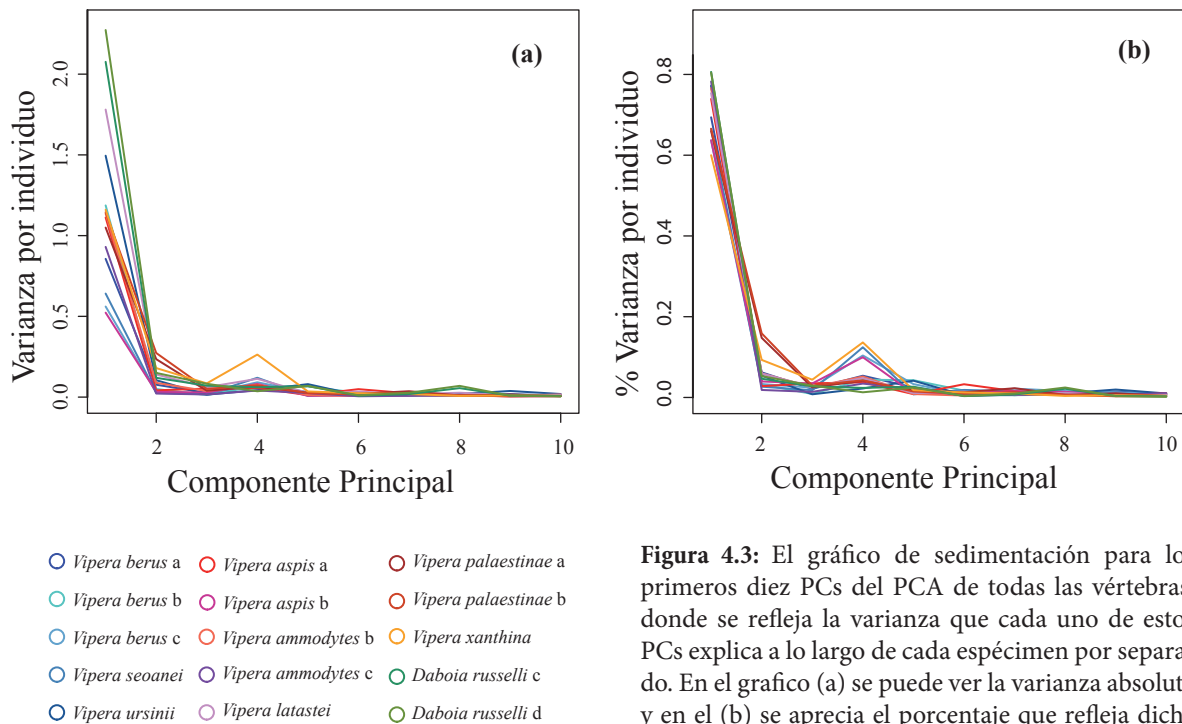


Figura 4.3: El gráfico de sedimentación para los primeros diez PCs del PCA de todas las vértebras, donde se refleja la varianza que cada uno de estos PCs explica a lo largo de cada espécimen por separado. En el gráfico (a) se puede ver la varianza absoluta y en el (b) se aprecia el porcentaje que refleja dicha varianza respecto a la varianza total del individuo. Se

hace patente que con los PCs generados la variación intracolumnar se describe adecuadamente con el uso de los cuatro primeros y no solamente los dos que es el caso de la muestra total.

Los valores positivos del PC2 (figura 4.4b) corresponden a configuraciones cuya espina neural se coloca más posteriormente respecto al zigosteno con su margen anterior mucho más oblicuo. Además, la orientación del proceso prezigapofisiario tiende a ser horizontal. También se observa un aumento del grosor relativo del arco neural cuyo margen posterior se hace más vertical. Como último, se produce un estrechamiento en la parte ventral de la vértebra incluyendo la zona que corresponde a la hipoapófisis, la paradiapófisis y finalmente el proceso parapofisiario.

En lo que se refiere al PC3 (figura 4.4c), las configuraciones correspondientes a los valores negativos presentan la espina neural levemente más grande y rectangular que la media mientras que la hipoapófisis figura como más corta. Además, la paradiapófisis es más oblicua y posicionada más posteriormente.

Finalmente, el PC4 (figura 4.4d) hacia sus valores negativos refleja un estrechamiento dorsoventral del arco neural acompañado por el cambio de orientación tanto en el hipoapófisis como en el proceso prezigapofisiario. Así, la orientación obtenida por estas estructuras es levemente más dorsal en el caso del proceso prezigapofisiario y más posterior para el hipoapófisis.

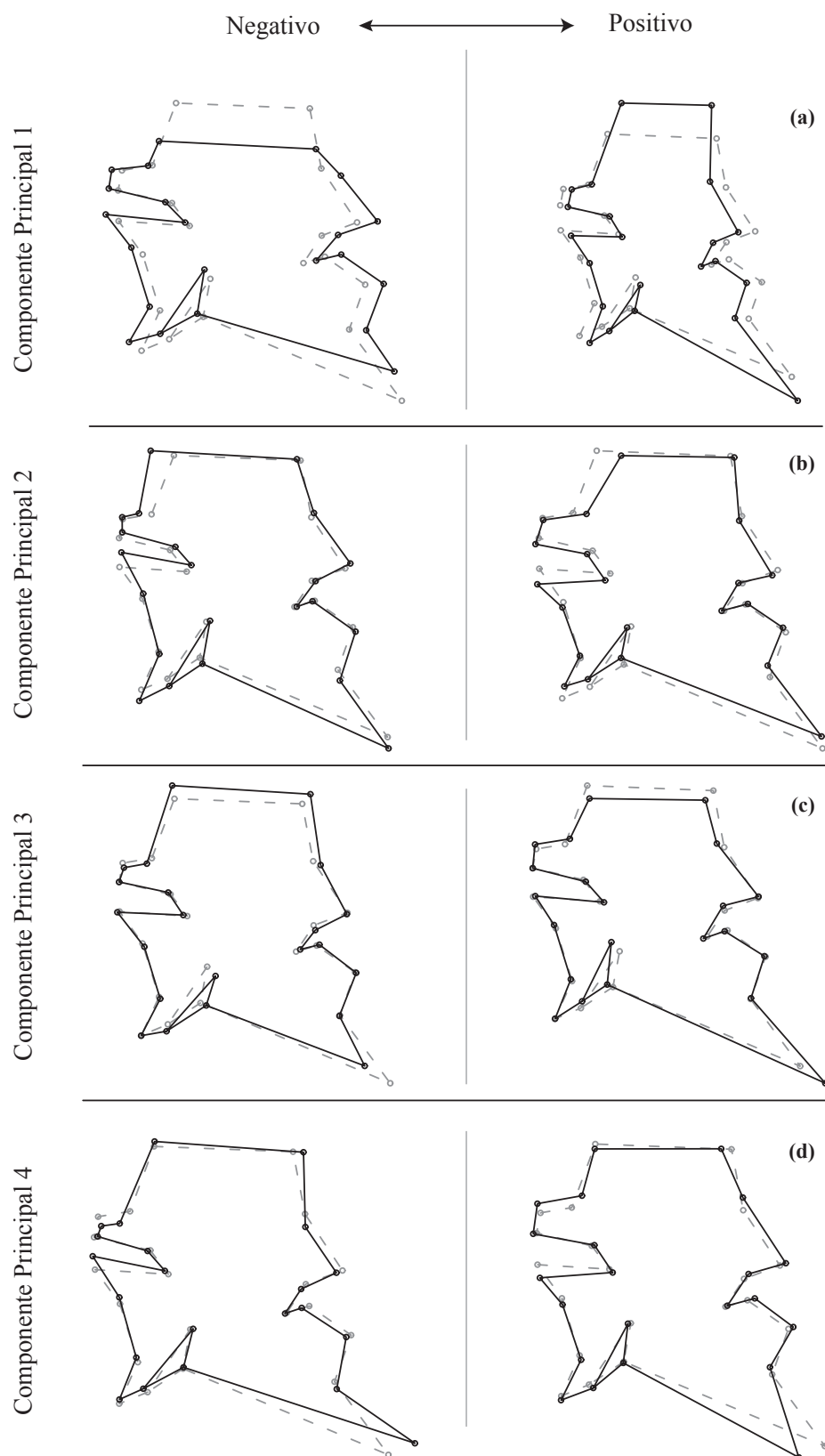


Figura 4.4: Gráfico que muestra las deformaciones de las configuraciones de landmarks de las vértebras preloacales en el espacio físico. Las variables geométricas ilustradas son el PC1 (a), el PC2 (b), el PC3 (c) y el PC4 (d). Para cada PC figura tanto la deformación hacia los valores positivos como la que tiene lugar hacia los valores negativos (representadas con el color negro). Todas estas deformaciones se presentan respecto a la misma referencia que es la geometría media de la muestra (representada con el color gris).



C. Distribución de las vértebras en el morfoespacio

La variabilidad de las geometrías vertebrales de las víboras estudiadas se puede apreciar en el morfoespacio reducido, definido por los tres primeros PCs (Figura 4.5). En este morfoespacio la serie vertebral de cada víbora define una trayectoria, cuya forma se asemeja a una herradura. Se puede observar un solapamiento importante entre las distintas trayectorias. Consecuencia de esto es el hecho de que no se puedan aislar zonas del morfoespacio que contengan solamente a un individuo. Este también es el caso de los conjuntos de trayectorias que componen tanto especies como complejos. Por lo tanto, parece una tarea imposible la división del morfoespacio en zonas bien definidas que contengan vértebras de la misma especie o del mismo complejo.

Sin embargo, se puede realizar una separación preliminar. Los valores extremos del PC1 corresponden a las vértebras del complejo “*berus*” (valores negativos) mientras que *Daboia* ocupa valores positivos. Además, en líneas generales se puede afirmar que las vértebras de cada complejo sigue una distribución espacial dominada por el PC1.

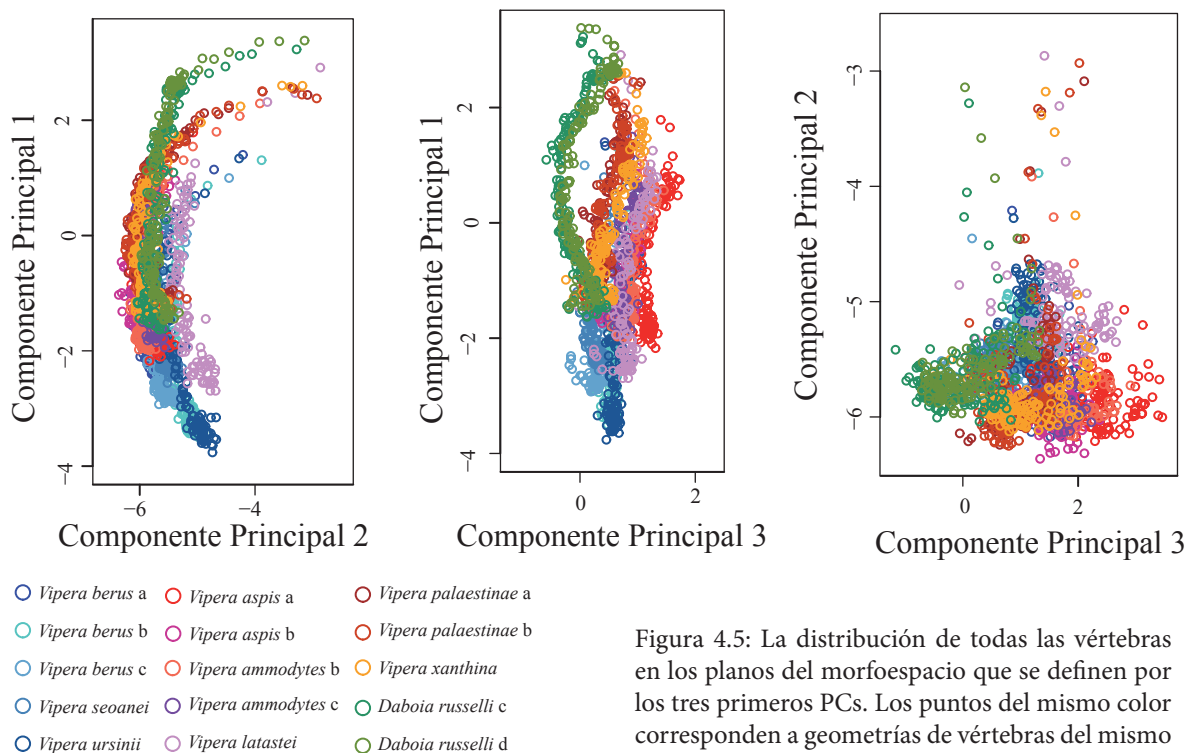


Figura 4.5: La distribución de todas las vértebras en los planos del morfoespacio que se definen por los tres primeros PCs. Los puntos del mismo color corresponden a geometrías de vértebras del mismo individuo (véase leyenda de la figura). Se puede

apreciar el solapamiento de alto grado que presentan las trayectorias de distintos ofidios e incluso complejos. Además se hace patente que la forma de las trayectorias para el plano definido por PC1 y PC2 es de tipo herradura.



D. Patrón seriado de la geometría vertebral

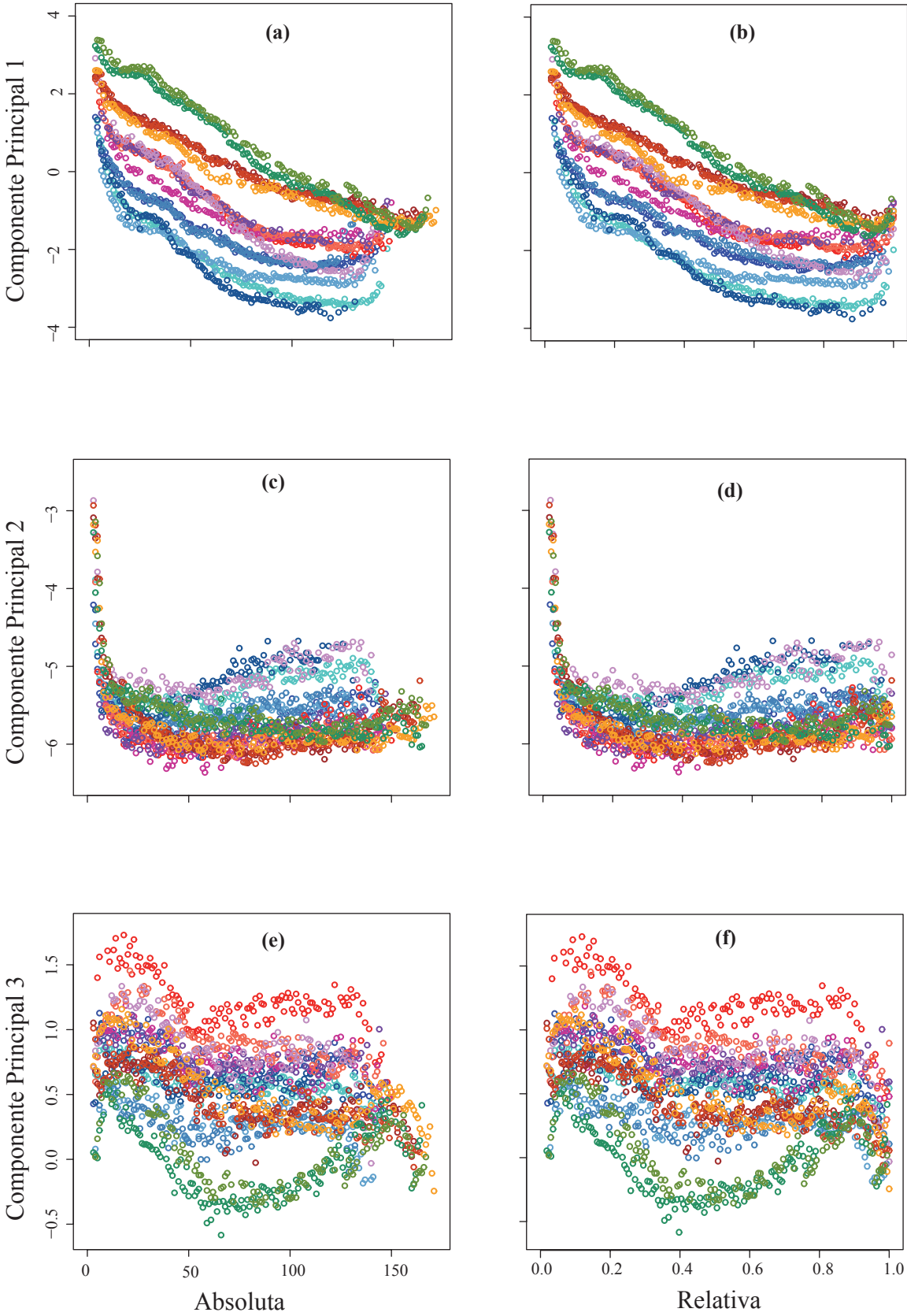
El primer tipo de variabilidad a considerar, como parte de la disparidad de las geometrías vertebrales en el morfoespacio, es el que tiene lugar dentro del mismo individuo. La naturaleza seriada del esqueleto axial permite representar los resultados a lo largo de un eje para ver la influencia de la posición ordinal respecto a los valores de los PCs. Este tipo de gráfica expresa de forma adecuada el patrón seriado de la geometría vertebral que tiene lugar a lo largo de la región precloacal.

La figura 4.6 muestra la conducta de los cuatro primeros PCs a lo largo de las quince columnas vertebrales. Atendiendo a los complejos y para el PC1 (figura 4.6a y b), se disponen siguiendo un gradiente de cambio geométrico. Esto significa que dicha dimensión en gran medida explica la variación intracolumnar para todos los especímenes. Además, las series pertenecientes a distintos complejos aparentemente ocupan distintas zonas en la gráfica, casi paralelas entre sí. Sin embargo, esta disposición se quebranta en el caso de las víboras orientales y aun más en las del género *Daboia*. Pues, estos dos complejos se solapan a partir de la vértebra #100 aproximadamente.

Aunque los cuatro complejos tienden a ser paralelos, comienzan desde geometrías distintas, de modo que las vértebras más anteriores de los cuatro complejos corresponden a valores distintos a lo largo del PC1. Los valores positivos más altos corresponden a las del género *Daboia* y dirigiéndonos hacia el cero se encuentran las de las orientales, de “*aspis*” y finalmente de “*berus*”. Esto supone que la tasa de cambio del PC1 a lo largo de la columna no es la misma para cada complejo. Por un lado, los complejos de *Daboia* y víboras orientales muestran una tasa de cambio casi estable a lo largo de la región precloacal y algo mayor en orientales. Por el otro lado, en el caso de los dos complejos de las víboras europeas la tasa de cambio geométrico a lo largo del PC1 disminuye drásticamente su influencia aproximadamente a la altura de la vértebra #90.

El PC2 (figura 4.6c y d) refleja los cambios comunes a lo largo de las vértebras anteriores en todos los especímenes, no sólo en lo que se refiere a la orientación (como en el caso de las series paralelas observado en el PC1), sino también a lo concerniente a las geometrías obtenidas (los valores absolutos) por las vértebras. En pocas palabras el PC2 explica las formas coincidentes para todas las víboras analizadas hasta la vértebra #10 (Figura 4.6c). A partir de dicha posición el cambio longitudinal a lo largo del PC2 es casi nulo para todos los esqueletos y las zonas del morfoespacio ocupadas por los diferentes complejos se solapan.

En lo que se refiere al PC3 (figura 4.6e y f), las geometrías vertebrales de los complejos se solapan. Sin embargo, se puede observar una transición desde el complejo “*aspis*” (valores máximos) para pasar al de “*berus*”, continuando en las orientales y finalmente *Daboia* (valores negativos). Hay que destacar que *Daboia* se separa bastante bien del resto a lo largo de

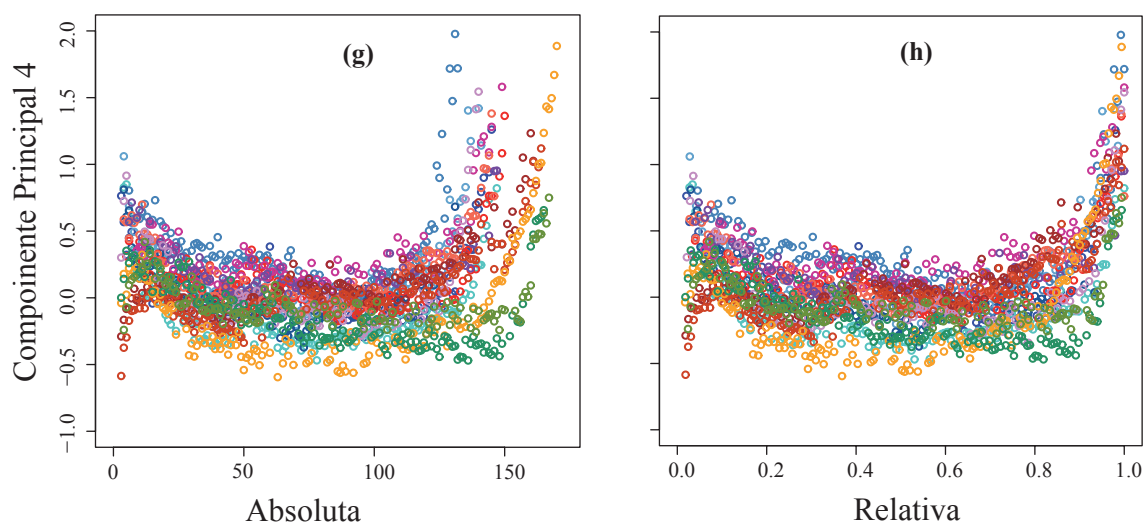


Posición Ordinal

(continúa en la siguiente página)



(continuación de la página anterior)



Posición Ordinal

- | | | |
|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| ○ <i>Vipera berus</i> a | ○ <i>Vipera aspis</i> a | ○ <i>Vipera palaestinae</i> a |
| ○ <i>Vipera berus</i> b | ○ <i>Vipera aspis</i> b | ○ <i>Vipera palaestinae</i> b |
| ○ <i>Vipera berus</i> c | ○ <i>Vipera ammodytes</i> b | ○ <i>Vipera xanthina</i> |
| ○ <i>Vipera seoanei</i> | ○ <i>Vipera ammodytes</i> c | ○ <i>Daboia russelli</i> c |
| ○ <i>Vipera ursinii</i> | ○ <i>Vipera latastei</i> | ○ <i>Daboia russelli</i> d |

Figura 4.6: Gráficos que representan el patrón seriado de la geometría vertebral para los especímenes analizados. El patrón seriado se descompone en los primeros cuatro PCs para evaluarse por separado. Lo que se ve es la manera que el valor de cada PC varía respecto a la posición a lo largo de la región precloacal. Se

hace uso tanto de la posición ordinal absoluta como de la posición ordinal relativa, destacando de esta manera las conductas que no se deben a las diferencias en el número de vértebras precloacales entre los ofidios. Los puntos del mismo color corresponden a geometrías de vértebras del mismo individuo (véase leyenda de la figura).

esta dimensión, especialmente las vértebras centrales. Una peculiaridad de este PC es que las geometrías de las vértebras presentan una periodicidad a lo largo del eje (los valores oscilan longitudinalmente).

El PC4 (figura 4.6g y h) se podría considerar como simétrico del PC2. Pues este es el que explica la variación geométrica que se localiza en las vértebras más posteriores de los ofidios estudiados. En concreto, explica la variación geométrica del 10% más posterior de la región precloacal (figura 4.6h).

Resumiendo, el patrón seriado de la geometría vertebral en las víboras estudiadas se explica principalmente por el PC1. Además dicha dimensión es responsable de las variaciones interindividuales. Por otro lado, el PC2 describe la variación de la anatomía de las primeras diez vértebras independientemente de la longitud de la serie axial, mientras que el PC4 explica la del 10% más posterior de la región precloacal. El PC3 refleja una tasa de variación máxima entre morfologías vertebrales (especialmente en el caso de *Daboia*) siguiendo un patrón periódico.



E. Distribución de las geometrías vertebrales típicas de los especímenes

Aparte de la variación intraindividual, la disparidad de las geometrías vertebrales se caracteriza también por la variación entre especímenes o especies. Como destacar tal información es imposible incluyendo todas las vértebras (Figura 4.4), aquí resumimos cada espécimen en una geometría vertebral identificativa. De esta manera la variación entre víboras se traslada al estudio de la distribución relativa dentro del morfoespacio de estas geometrías vertebrales típicas. Para este capítulo, esta geometría típica corresponde a la geometría vertebral media de cada esqueleto.

En la figura 4.7 se representan las geometrías vertebrales medias para cada esqueleto, teniendo en cuenta los tres primeros PCs. En concreto, las coordenadas de cada vértebra típica son los valores medios de estos PCs para cada una víbora por separado. De esta manera, se puede ver que los especímenes pertenecientes a los distintos complejos ocupan distintas zonas del morfoespacio. En esta distribución tiene lugar una separación de los cuatro complejos a lo largo del PC1. El orden desde los valores negativos hacia los positivos es “berus”, “aspis”, orientales y *Daboia*. Sin embargo refinando, dentro del complejo “berus” se distinguen los especímenes pertenecientes a la especie *V.berus* de las *V. ursinii* y *V. seoanei*. Lo mismo pasa con las orientales, donde la *V. xanthina* se aleja de las *V. palaestinae*. En el caso del complejo “aspis” el paso de “berus” hacia orientales es *V. latastei*, *V. aspis* y *V. ammodytes*.

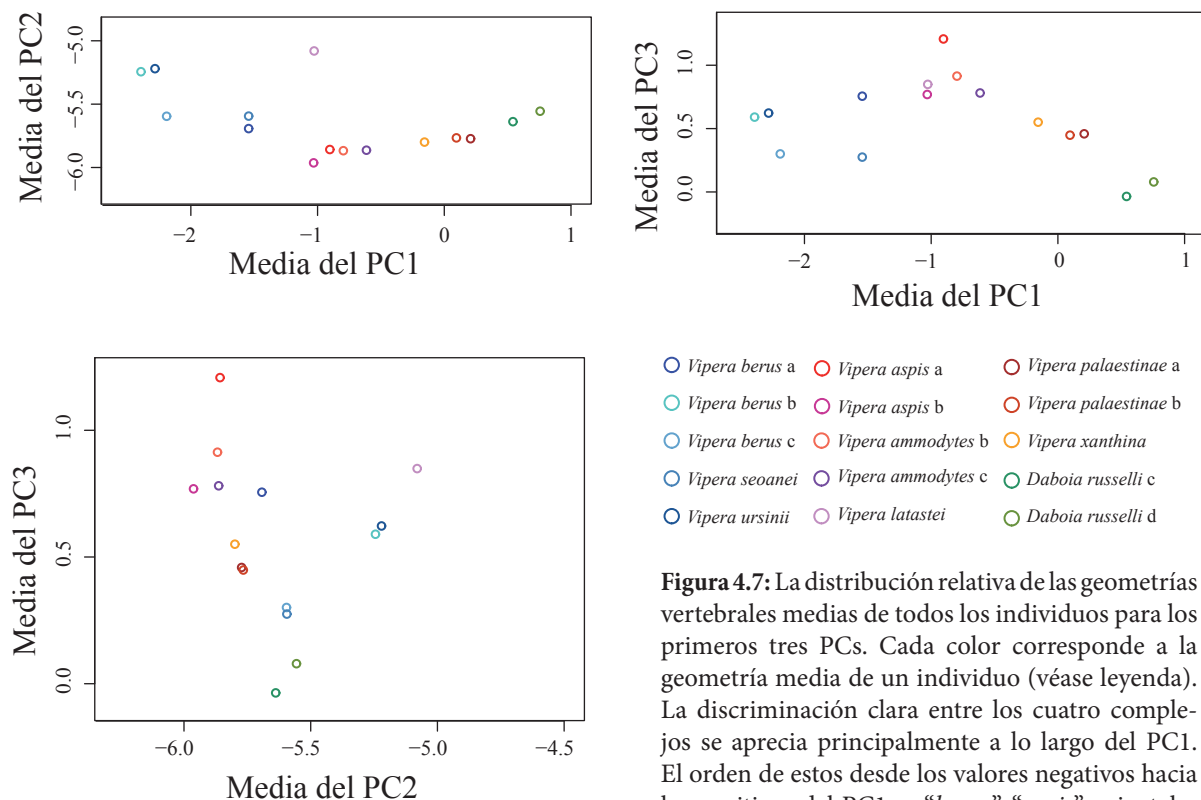


Figura 4.7: La distribución relativa de las geometrías vertebrales medias de todos los individuos para los primeros tres PCs. Cada color corresponde a la geometría media de un individuo (véase leyenda). La discriminación clara entre los cuatro complejos se aprecia principalmente a lo largo del PC1. El orden de estos desde los valores negativos hacia los positivos del PC1 es “berus”, “aspis”, orientales y *Daboia*.



Sin embargo, el morfoespacio se compone por cuarenta dimensiones y no solamente por las tres usadas anteriormente. Por eso, se hallan las geometrías vertebrales medias para todos los PCs y posteriormente se calculan las distancias Procrustes entre todos los pares posibles. Aplicando el MDS se genera un espacio de dos dimensiones donde la distribución de las geometrías medias mejor representa lo que ocurre en la totalidad del morfoespacio. Dicha distribución relativa se puede apreciar en la figura 4.8. Así se hace patente que el MDS nos da una distribución de geometrías vertebrales similar al plano entre los dos primeros PCs. En particular, lo que principalmente se asemeja es la dimensión 1 y el PC1. La primera dimensión discierne entre las víboras orientales y europeas. Mientras que la dimensión 2 hace una discriminación leve entre las del complejo “*aspis*” con el resto de víboras. Sin embargo esta similitud aparentemente significa que, en lo que concierne las distancia anatómicas entre las geometrías vertebrales de los individuos, el plano conformado por los dos primeros componentes principales nos da casi toda la información.

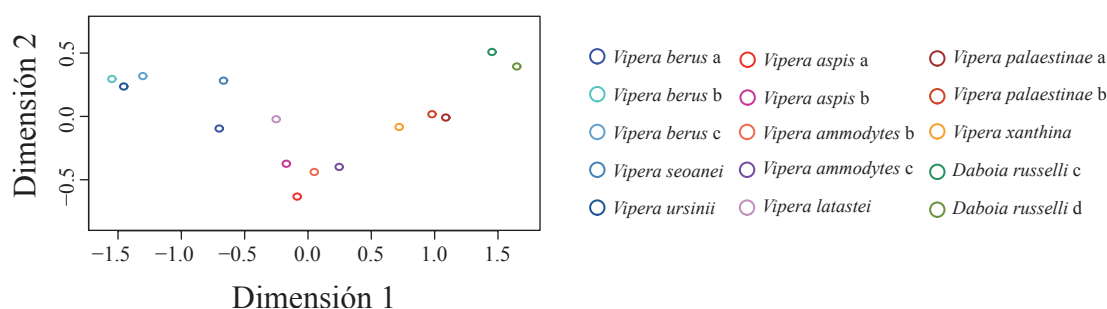
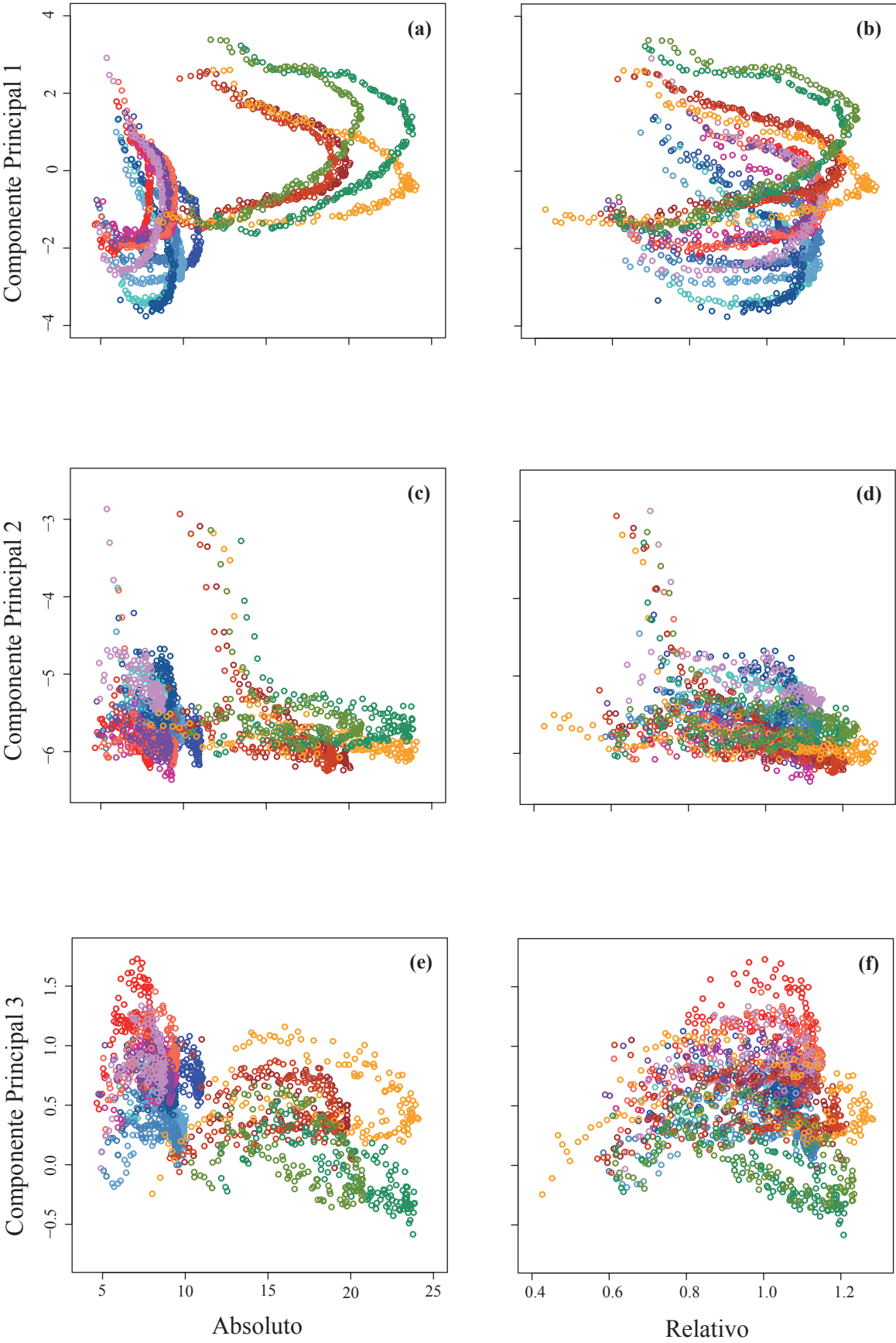


Figura 4.8: La distribución relativa de las geometrías vertebrales medias aplicando el MDS y teniendo en cuenta la totalidad de las dimensiones del morfoespacio. Cada color corresponde a la geometría media de un individuo (véase leyenda). La distribución se parece a la que se encuentra en el plano del PC1 y PC2. Sin embargo, mientras que la dimensión 1 se parece mucho al PC1, la dimensión 2 se diferencia del PC2 por el hecho de que discrimina entre las víboras del complejo “*aspis*” y el resto.

3. La influencia del tamaño a la geometría vertebral

El uso del tamaño para la predicción de la geometría de los objetos orgánicos es muy común. La capacidad predictiva yace en el requisito de que la relación entre dichas dos variables es funcional (cada valor de los x corresponde como máximo a uno de los y). Como estimación del tamaño vertebral se usa el tamaño de centroide (ver capítulo *Material y Métodos*) y como variables geométricas se utilizan los PCs.

Como se puede ver en la figura 4.9, el caso del esqueleto axial de las víboras no es un caso de relación funcional entre tamaño y geometría. Pues, un valor del tamaño no siempre corresponde a una única geometría vertebral. Además, dicha relación no se puede establecer ni siquiera para cada un espécimen por separado. Esta condición es una consecuencia lógica del patrón seriado del tamaño vertebral no-monótona a lo largo de la región precloacal (véase figura 3.12 y el texto correspondiente).



Tamaño

(continúa en la siguiente página)



(continuación de la página anterior)

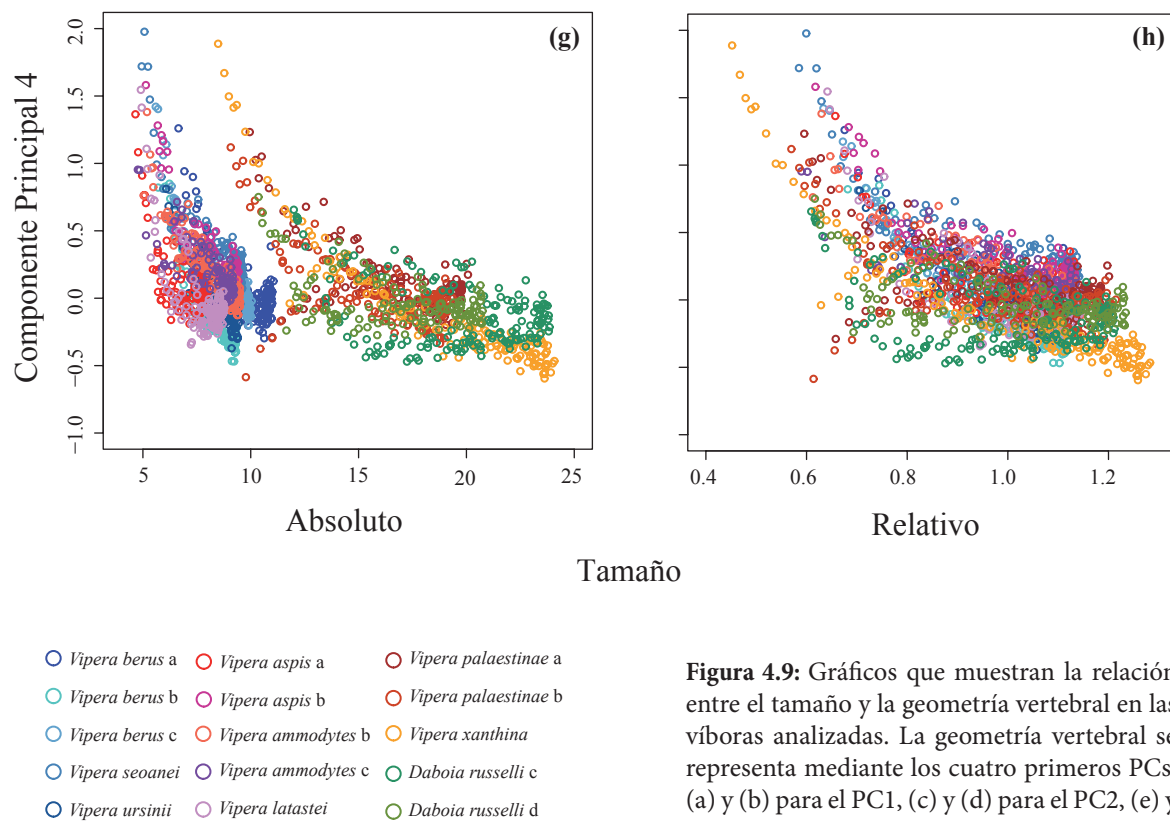


Figura 4.9: Gráficos que muestran la relación entre el tamaño y la geometría vertebral en las víboras analizadas. La geometría vertebral se representa mediante los cuatro primeros PCs: (a) y (b) para el PC1, (c) y (d) para el PC2, (e) y (f) para el PC3, (g) y (h) para el PC4. Mientras que el tamaño vertebral se representa tanto por el absoluto (a,c,e y g) como por el relativo (b,d,f y h). Los puntos del mismo color corresponden a geometrías de vértebras del mismo individuo (véase leyenda de la figura).

El uso del tamaño absoluto y el tamaño relativo dan diferentes gráficos. Su principal diferencia consiste en el hecho de que en el primer caso (Figura 4.9a,c,e y g) no solamente se separan en dos bloques de tamaño que corresponden a las víboras europeas y asiáticas, sino también cambia la relación a lo largo de la columna (Figura 4.9a). Mientras que dicho broche cierra con la estandarización del tamaño vertebral (Figura 4.9b,d,f y h) y además los patrones se parecen entre sí (Figura 4.9b). Esto significa que la relación entre el tamaño y la geometría vertebral está condicionada por el valor absoluto del tamaño.

En lo que se refiere al PC1 (figura 4.9a y b), la relación entre el tamaño y la geometría vertebral revela un progreso gradual de ambas variables en todos los especímenes. Hay que destacar aquí que con el uso del tamaño vertebral absoluto (figura 4.9a) se genera un espacio de forma que está vacío en la región que corresponde a tamaño vertebral grande y valores de PC1 negativos. Además, la distribución relativa de los elementos para cada ofidio toma una forma cuya línea de simetría es paralela al eje del tamaño en el caso de la víboras asiáticas e inclinadas para las europeas. Sin embargo, en el análisis del tamaño vertebral relativo (figura 4.9b) las trayectorias de los distintos individuos son muy similares pero desplazadas a lo largo de la variable geométrica.



En lo que se refiere al PC2 (figura 4.9c y d), destaca la variación de las vértebras anteriores que es independiente al tamaño. Por el otro lado el PC3 (figura 4.9e y f) no guarda ninguna relación con el tamaño. Como último, el PC4 explica la variación de las vértebras posteriores la cual no es independiente del tamaño (figura 4.9g y h).

Discusión

El presente capítulo profundiza al estudio de la variabilidad de la geometría vertebral en las víboras eurasiáticas. La disparidad de geometrías se visualiza en un morfoespacio de reducidas dimensiones con el uso del PCA. En este morfoespacio y a lo largo de los PCs elegidos se destacan la estructuras vertebrales más cruciales en la variabilidad de la geometría vertebral. Sin embargo, la separación de los complejos osteológicos por distribución diferencial de sus vértebras es imposible. Estos requiere la descomposición de la variabilidad total en variación intracolumnar y entre especímenes.

En lo que se refiere a la variación intracolumnar, el análisis del patrón seriado de la geometría vertebral revela que hay muchas similitudes entre los individuos de las especies estudiadas. El patrón seriado se describe bastante bien por el PC1, aunque su influencia varía entre especies y ciertas partes de la serie vertebral se influyen más por PC2 y PC4. No obstante el PC1 aparte de patrón seriado aparentemente explica también el otro tipo de variación, a saber la variación entre complejos.

En lo que se refiere al patrón seriado de la geometría vertebral, esta aproximación cuantitativa enriquece y matiza los estudios anteriores cualitativos realizados principalmente en el ámbito de la paleontología. De esta manera, se aporta información adicional relevante a la identificación de las vértebras aisladas en el registro fósil. Esto se consigue separando los dos niveles de variación (intracolumnar e interespecífica) que aparentemente se explican por el mismo patrón (PC1).

El diseño vertebral esta vinculado a las demandas funcionales que varían a lo largo de la región precloacal (Kardong, 2009; p311). Así que tanto su variación como las constricciones de esta se evalúan en este contexto.

1. La variabilidad de las trayectorias

A. El efecto herradura en las estructuras seriadas

Las vértebras pertenecientes al mismo individuo definen una trayectoria en el morfoespacio. Todas las trayectorias han resultado ser unidimensionales (Figura 4.5) con una forma de



herradura visible en el plano de los dos primeros PCs. Dicho tipo de distribución se denomina “efecto herradura” (Kendall, 1971) y es bastante común en los métodos de ordenación (Leeuw, 2007). Este resultado gráfico se debe a un gradiente subyacente dominante en las series, hecho que se justifica por la altísima varianza del PC1 (Podani y Miklós, 2002). La información que contiene este tipo de gráficas es local, es decir que mientras que las distancias entre objetos adyacentes están precisamente calculadas, las de los objetos alejados tienden a subestimarse (Diaconis *et al.*, 2008). Prácticamente lo que esperamos en estos casos es que los valores de la primera dimensión (PC1) varíen unidireccionalmente mientras que los de la segunda (PC2) sean unimodales (Leeuw, 2007; Diaconis *et al.*, 2008).

Este caso no es el único, ya que los escasos trabajos que tratan el estudio cuantitativo de la variación intracolumnar aplicando morfometría geométrica presentan resultados parecidos (Sarris *et al.*, 2012). Por ejemplo, el análisis cuantitativo de las vértebras toracolumbares de los marsupiales (Chen *et al.*, 2005; Figura 7) y también en los cocodrilos (Sarris y Chamero, 2009). Mientras que en el primer estudio no se analiza el fenómeno, en el último trabajo se analiza la supuesta relación entre objetos seriados y el efecto herradura. Aunque en ese caso lo seriado se refiere en lo espacial no hay que descartar las series temporales, por ejemplo propias de un movimiento (Adams y Cerney, 2007). En ambos casos (tanto espacial como temporal) el estado de un elemento depende principalmente de sus elementos adyacentes (aun que para ser más precisos y no caer en hipótesis teleológicas en el caso de las temporales de su elemento anterior).

B. El doble papel del PC1: variación intra- e interindividual

El morfoespacio resultante en el presente estudio es altamente redundante, es decir que la mayoría de sus dimensiones nos cuentan lo mismo y por tanto son prescindibles. Esto se hace patente teniendo en cuenta que sólo una dimensión (el PC1) explica el 74% de la varianza total. Hecho que se vincula, como se ha señalado anteriormente con el efecto herradura.

El alto grado de varianza a lo largo del PC1 le otorga inevitablemente un doble papel. Por un lado, nos da el principal patrón seriado de la geometría vertebral a lo largo de todas las columnas vertebrales y por otro lado, las diferencias interespecíficas de esta geometría. Ambos tipos de variación se caracterizan por un cambio gradual, a saber, desde los valores positivos del PC1 hacia los negativos tiene lugar tanto un paso de las vértebras anteriores hacia las posteriores como un paso por los complejos *Daboia* → orientales → “*aspis*” → “*berus*” (Figura 4.5, 4.6a,b ; 4.7 y 4.8).

La coexistencia de estos dos niveles de variación conlleva el solapamiento de las trayectorias de los distintos esqueletos, haciendo una tarea imposible su discriminación en zonas separadas en el morfoespacio. Consecuencia de esto es que en las identificaciones de las vértebras aisladas procedentes del registro fósil el diseño vertebral se utiliza para ubicarla tanto posicional como taxonómicamente.



En la mayoría de los casos parece ser que la asignación posicional de una vértebra presupone la identificación taxonómica correcta. Esto se puede visualizar fácilmente en la Figura 4.10 donde teniendo una geometría vertebral concreta entonces esta puede corresponder a distintos taxones en diferentes posiciones. Lo que significa que hay que decidir primero cual de las dos asunciones, a saber posición ordinal o complejo, es menos arriesgada para poder deducir la otra condición.

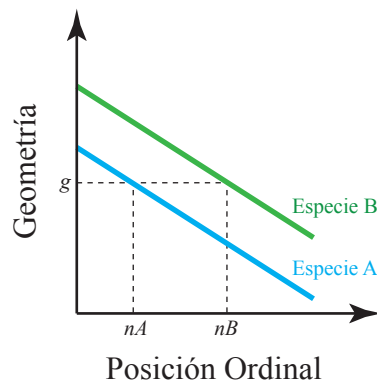


Figura 4.10: Gráfico que muestra la ambigüedad a la hora de identificar una vértebra aislada, muy común en el caso del registro fósil. Pues, asumiendo que los patrones seriados de la geometría vertebral tienden a ser aproximadamente paralelos (como es el caso del PC1), una geometría vertebral de valor g puede corresponder o bien a la posición nA de la especie A o a la nB de la especie B. Por tanto, hace falta emplear criterios externos a la geometría (tamaño, edad, zona etc.) suficientes para determinar uno de estos dos parámetros y proceder a la determinación del otro.

Este doble papel del PC1 presenta la misma direccionalidad tanto intracolumnar como evolutiva. El patrón seriado de la geometría vertebral que explica coincide con el paso de vértebras típicas de los complejos más derivados hacia los más primitivos (según Groobridge, 1980) es decir: *Daboia* → orientales → “*aspis*” → “*berus*”. Esto significa que la geometría vertebral de las formas más derivadas se parece más a la de la serie anterior de la región precloacal de las más primitivas. Por tanto, se hace patente que, en líneas generales, el mecanismo de diferenciación de la geometría vertebral a lo largo del mismo individuo aparentemente se sigue también durante la evolución. Esto puede ser debido a un fenómeno de heterocronía, vinculado con el incremento de tamaño en las formas más derivadas, o las restricciones construccionales impuestas a estos elementos por su alto grado de especialización. Tales restricciones no son extrañas ya que el esqueleto es crucial en un contexto estructural sin extremidades y cualquier modificación inoportuna podría amenazar el equilibrio del sistema.

2. La influencia de la posición al diseño vertebral

A. Patrón seriado de la geometría vertebral

La variación intracolumnar de la geometría vertebral para la región precloacal de las víboras eurasiáticas analizadas es parecida entre los especímenes (Figura 4.6). De esta manera, como ya se ha mencionado, el PC1 determina en gran parte la variación de la geometría vertebral a lo largo de la región precloacal en las víboras estudiadas. No obstante, en el caso de las europeas,



su influencia se reduce a partir de la vertebra #90 aproximadamente. Este cambio gradual está acompañado por la influencia del PC2, para las diez primeras vértebras, y por el PC4 y para el 10% más posterior de la región precloacal. Por último, se tiene que añadir la presencia del PC3 cuya contribución más destacable relativa al patrón seriado es carácter periódico. Este carácter periódico tiene una explicación que se desarrollará en el siguiente capítulo y que se refiere a la tasa de crecimiento de las vértebras a lo largo de la serie.

En lo que se refiere a la interpretación física de todo lo anteriormente mencionado, en el patrón seriado de la geometría vertebral predomina un aplastamiento y un alargamiento gradual de las vértebras (Figura 4.11). Así las vértebras anteriores se caracterizan por una geometría con espinas neurales altas y estrechas e hipapofisis largas, orientadas ventralmente (Figura 4.4; PC1). Dicho cambio anatómico está acompañado, a lo largo de las vértebras más anteriores, por el desplazamiento del borde anterior de la espina neural que se acerca al zigosfeno haciéndose más vertical y el cambio abrupto de orientación del proceso prezigapofisiario dorsalmente (Figura 4.4; PC2). Mientras que la región posterior no está afectada por esta última variación (que tiene lugar a lo largo del PC2). Hacia la cloaca, las vértebras sufren cambios muy importantes en las orientaciones de los procesos prezigapofisiarios y las hipapofisis ya que ambas estructuras se dirigen más ventralmente (Figura 4.4; PC4). Este cambio, se puede decir, que es un retorno anatómico parcial hacia la anatomía de las vertebra anteriores. En este patrón descrito, además, se puede añadir el cambio periódico de la altura de la espina neural y de la longitud de la hipapófisis explicada por el PC3.

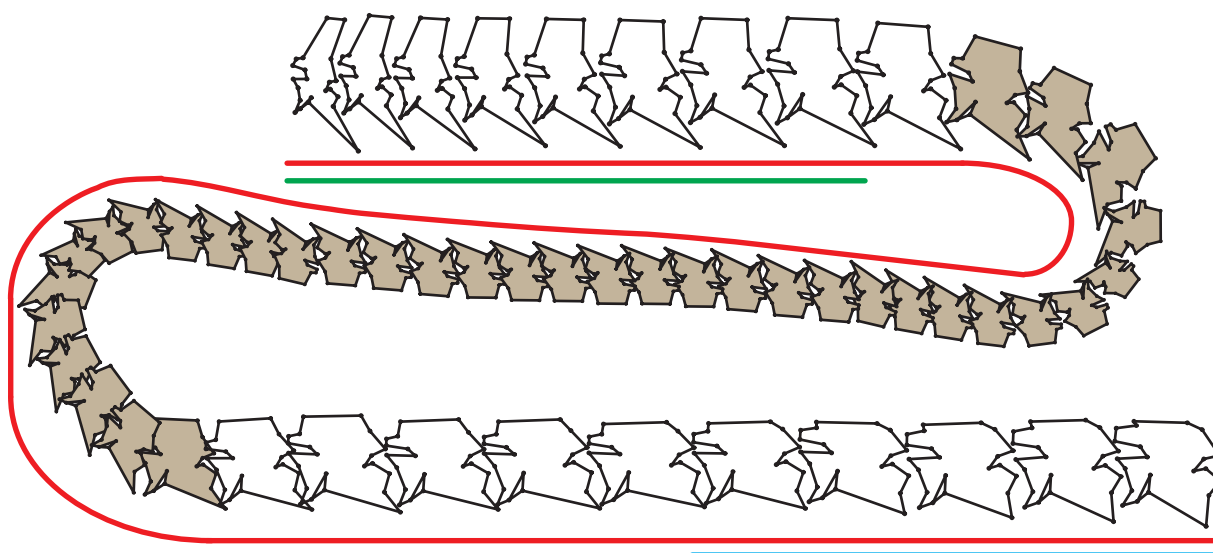


Figura 4.11: Esquema del patrón seriado de la geometría vertebral en las víboras eurasiáticas. El PC1 forma un gradiente de cambio geométrico continuo y a lo largo de la región precloacal entera (su dominio se representa con el color rojo). Sin embargo, geométricamente las zonas que presentan más interés es la serie anterior y posterior (representadas en blanco). Dichas zonas se influyen, además, por el PC2 (color verde) y PC4 (color azul) respectivamente.



La variación intracolumnar de la anatomía vertebral en las serpientes, aunque crucial para los estudios paleontológicos, no ha atraído la atención de los otros estudiosos. Para los paleontólogos hay un consenso general de que las vértebras anteriores de los ofidios (y en particular de las víboras) son altas y cortas y gradualmente se hacen más bajas y largas (Szyndlar y Schleich, 1993). En concreto, la hipapofisis se hace más corta y se dirige posteriormente (Thireau, 1967; Malnate, 1972; Szyndlar, 1984; p.82; Bachmayer y Szyndlar, 1985; Bailon, 1986; Venczel, 1994; Augé y Rage, 2000; Venczel, 2001). A su vez, la espina neural se hace más baja, más larga (Thireau, 1967; Szyndlar, 1984; p.84; Bailon, 1986; Bachmayer y Szyndlar, 1987; Szyndlar, 1987; Venczel, 1994) y su borde anterior disminuye su inclinación (Zerova, 1992). También se observa un alargamiento del proceso prezigapofisiario (Szyndlar, 1984; p.84). Como último, las vértebras posteriores tienen el proceso parapofisiario más largo (Szyndlar y Schleich, 1993) o más corto (Szyndlar, 1987; Zerova, 1992) y orientado anteriormente (Szyndlar, 1984; p. 126;).

En líneas generales dichas observaciones concuerdan con nuestros resultados cuantitativos. No obstante, hay tres puntos donde se hace patente la deficiencia de las aproximaciones cualitativas: (i) los patrones que explican son monótonos, (ii) no se evalúa la coexistencia de la variación entre distintas partes y (iii) no se puede localizar la posición exacta donde se producen estas variaciones. Nuestra aproximación cuantitativa puede contribuir a aclarar estos puntos.

Los estudios cualitativos otorgan unidireccionalidad a los patrones seriados de la anatomía vertebral, cosa que en parte no queda rectificada en nuestro estudio. Pues, por ejemplo, mientras que la tendencia general de la hipapófisis es la transición gradual desde una orientación recta a una dirigida más posteriormente, la serie más posterior de la región precloacal (como indica el PC4) se caracteriza por el patrón contrario. Lo mismo ocurre con el proceso prezigapofisiario que empieza desde una orientación horizontal para aumentar su inclinación gradualmente y al final de nuevo vuelve a tener una orientación horizontal. A esto también se puede añadir la contribución periódica del PC3.

La segunda observación es relevante cuando se analizan las estructuras vertebrales por separado. Mientras que los paleofidólogos analizan la variación anatómica independientemente para cada estructura vertebral, el PCA nos permite visualizar el conjunto de los cambios geométricos que coexisten (los que cada PC explica). Esta interdependencia de los distintos caracteres está relacionada con la movilidad de la columna vertebral (Gasc, 1976). De modo que el alargamiento de la vértebra en las víboras se acompaña con el alargamiento del proceso prezigapofisiario y el cambio de la orientación del proceso parapofisiario. Parte de la variación del proceso parapofisiario y alargamiento está asociado a la verticalización del borde anterior de la espina neural a lo largo de la serie anterior de la región precloacal. Por último, a lo largo de las vértebras posteriores, los cambios en la orientación de la hipapófisis y en el proceso prezigapofisiario se acoplan.



Los dos puntos desarrollados anteriormente responden al problema de localizar los cambios. Pues, gracias al uso de un análisis exhaustivo incorporando el conjunto de vértebras precloacales se llega a localizar dos puntos de la región precloacal en las víboras que reflejan un cambio relativamente abrupto del patrón seriado de la variación de la geometría vertebral, a saber: uno se encuentra aproximadamente en la decima vértebra y el segundo en lo que corresponde al noventa por ciento de la longitud de la serie. En el caso de las europeas se podría añadir un tercer punto en la vértebra #90 aproximadamente donde empieza a decrecer la influencia del PC1.

Este análisis inclusivo del patrón seriado de la geometría vertebral contribuye a encontrar una solución para el conflicto del doble papel del PC1, el hecho de que en gran medida tanto la variación intracolumnar como interespecífica se caracterizan por cambios anatómicos muy similares. Si nos centramos en los extremos de la región precloacal, partiendo de la posición ordinal de una vértebra aislada podemos llegar a conocer el complejo al que pertenece. Una manera obvia de realizar esto es identificando combinaciones de geometrías entre el PC1 principalmente y el PC2 o PC4.

Con todo lo anteriormente desarrollado queda evidente que la identificación de la posición ordinal aproximada de una vértebra es más fácil si pertenece a las más anteriores o las más posteriores, es decir, si su geometría queda representada (aparte del PC1) por el PC2 o PC4 respectivamente. Esta conclusión concuerda con la de Polly y Head (2004) que, aplicando morfometría geométrica, identificaron la posición de las vértebras de un individuo del género *Cylindrophis*. Los resultados de dicho estudio nos dicen que la posibilidad de identificarla es mayor para las vértebras de los extremos de la región precloacal que para las centrales.

B. La interpretación biomecánica

No todos los elementos vertebrales varían de la misma manera a lo largo de la región precloacal, pues se hace evidente que el centro vertebral varía mucho menos que las apófisis. Dicha variación geometría diferencial se interpretó por el paleontólogo Jean-Claude Rage en términos identificativos. Según este autor la morfología conservadora del centro vertebral contiene información filogenética, mientras que la anatomía de los elementos proyectados depende más de la función (Rage, 1987; p.51). Sin embargo, aunque esta afirmación sea acertada, tanto los centros como el resto de los elementos vertebrales participan en un conjunto estructurado que “funciona”. Por eso, hemos de evaluar las geometrías dentro de este contexto. Por un lado, los centros vertebrales participan en el movimiento del cuerpo del ofidio, mientras que las apófisis se interpretan en conjunto con la musculatura, ya que forman los puntos de inserción principales a lo largo del eje axial.



El alargamiento del centro está muy vinculado con la capacidad de flexión lateral. En particular esto significa que las vértebras que son más cortas se asocian a una flexión con curvas de radio más pequeño, mientras que las más largas ofrecen estabilidad o incluso soporte (Gasc, 1976). La importancia de la presencia de centro vertebral corto para las vértebras anteriores se puede ilustrar por su relevancia en la mecánica de alimentación (Pregill, 1977). Pues, Cundall (1995) en su estudio funcional, en el ofidio *Cylindrophis*, observa que las primeras dieciséis vértebras realizan una flexión lateral muy pronunciada con la contracción del cuello. Tal flexión es posible realizarse por vértebras cuya geometría se asemeja a la de las anteriores, a saber, una geometría que se caracteriza por centros vertebrales relativamente cortos y por prezigapófisis orientadas horizontalmente. Condiciones que concuerdan con nuestros resultados morfométricos, visualizados a lo largo del PC1 y el PC2.

Dos parámetros de la anatomía de las apófisis juegan un papel protagonista en este contexto, a saber, el tamaño (o longitud) y la inclinación. Mientras que la longitud aumenta la fuerza efectiva que ejerce un músculo sobre un elemento, su inclinación tiende a ser paralela a la fuerza compuesta total de todos los músculos sobre él (Kardong, 2009; p.312). Dichos cambios anatómicos se hacen más patentes en los elementos vertebrales donde se insertan músculos importantes para las flexiones del cuerpo. En concreto Gasc (1976) destaca como tales elementos cruciales para el movimiento la espina neural y el proceso prezigapofisiario. Dichas dos estructuras están vinculadas con el músculo *M.semispinalis* que facilita la flexión dorsal y lateral (Mosauer, 1935). Sin embargo, el estudio de Gasc no menciona la importancia de la hipapófisis, ya que el estudio se realiza en una serpiente (una boa) cuyas vértebras troncales carecen de ella. La hipapófisis, cuya variación geométrica a lo largo de la región precloacal es significativa, es el origen del músculo *M.transversohypapophyseus*. Como otra inserción de este músculo se reconoce el proceso parapofisiario (Malnate, 1972). Este músculo está muy desarrollado en el caso de las víboras explicando de esta manera la alta variación de los dos elementos relacionados con él (es decir la hipapófisis y el proceso parapofisiario). La covariación de estas dos apófisis se puede apreciar a lo largo del PC1 (Figura 4.4).

El componente del patrón seriado de la geometría vertebral que concierne el cambio en la espina neural y la hipapófisis que se explica a lo largo del PC3 es más difícil de interpretar. Sin embargo, su interpretación, aparentemente, está vinculada con la musculatura de las serpientes. Razón de esto es su carácter periódico que podría tener relación con el patrón repetido de los segmentos musculares en las serpientes. Además, las estructuras vertebrales que varían a lo largo de esta dimensión (espina neural e hipapófisis) forman importantes puntos de inserción (Mosauer, 1935).



3. Relación entre tamaño y geometría: restricciones construccionales

La influencia que tiene el tamaño vertebral en la geometría se estudia independientemente para cada variable geométrica (cada PC). El resultado de este estudio hace patente una conducta similar entre cada una de estas variables y el tamaño vertebral relativo. El uso del tamaño absoluto tiende a generar dos bloques de series que corresponden a las europeas y las asiáticas respectivamente, un fenómeno analizado en el capítulo anterior.

En lo que se refiere al tamaño relativo, el PC1 presenta un patrón seriado similar para todos los individuos de curva desplazada a lo largo del PC1. Por otro lado, la variación geométrica de las vértebras más anteriores (representada por el PC2) está independiente del tamaño, a saber, dichas deformaciones vertebrales tienen lugar sin variar su tamaño. Esta relación no contemplada por la morfometría tradicional se define como *no-alométrica* (Box 4.1). Mientras que el PC3 no guarda ninguna relación con el tamaño, las vértebras más posteriores se relacionan alométricamente (Figura 4.12).

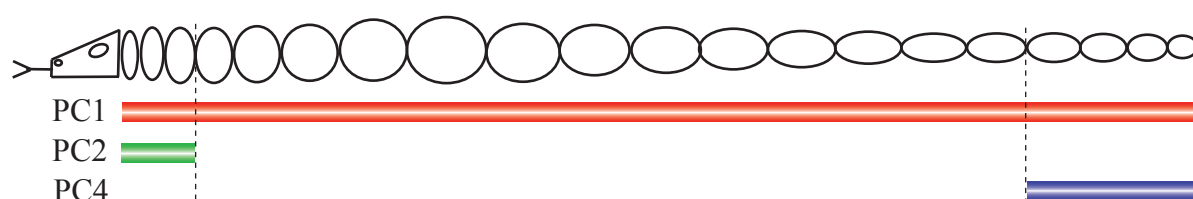


Figura 4.12: Representación esquemática de la relación entre tamaño vertebral y alargamiento en las víboras eurasiáticas. El PC1 caracteriza un gradiente de alargamiento de la geometría vertebral que está acompañado por un patrón seriado de tamaño vertebral de tipo campana. La serie más anterior de la región precloacal se caracteriza por la influencia del PC2 que guarda una relación no-alométrica, donde el tamaño vertebral no varía prácticamente. Mientras que en la serie más posterior el alargamiento se acompaña por reducción del tamaño vertebral.

En lo que concierne en tamaño absoluto vertebral, hay que destacar el hecho de que queda una zona vacía en el gráfico con el PC1 (Figura 4.9). La interpretación construccional de estos es que las vértebras alargadas no pueden llegar a obtener grandes dimensiones. Este hecho se puede explicar por las inconveniencias funcionales posibles que podría generar.

En el capítulo anterior, sobre el patrón seriado del tamaño vertebral, vemos que el tamaño vertebral aumenta hasta un valor máximo y luego disminuye para obtener sus valores mínimos en las vértebras más próximas a la cloaca (Figura 3.2). Por otro lado el patrón seriado de la geometría vertebral se puede describir simplemente como un alargamiento (Figura 4.4a). Ahora bien, Gray en su estudio sobre el movimiento de los ofidios (Gray, 1946) pone como una de sus condiciones necesarias que para moverse la serpiente hacia delante, el ángulo que se genera entre el eje de un segmento y de su precedente tiene que ser mayor que el que se genera con el de su posterior (Figura 4.13).



BOX 4.1: El estudio alométrico en el paradigma de la morfometría geométrica

Surgen cuestiones que requieren una revisión de los términos empleados por los estudios alométricos bajo el paradigma de la morfometría geométrica. Pues, este tipo de estudio es capaz de separar el tamaño de la geometría, cosa que no se podía hacer con la morfometría tradicional dentro de la cual se acuñó el término de alometría. Así que, mientras que para la morfometría tradicional isometría se refiere a un escalado de la misma geometría y alometría al cambio simultaneo de tamaño y geometría, no hay un término explicativo sobre lo que sucede en el PC2 del presente estudio. En este caso cambia la geometría pero se mantiene estable el tamaño. Este hecho no es de extrañar, ya que la morfometría tradicional carece de las herramientas adecuadas para la separación entre tamaño y geometría.

La alometría trata de estudiar la relación funcional entre tamaño y geometría (Kardong, 2009; p.131; Levinton, 2001; p.279). Mientras que en la morfometría tradicional hay varios trabajos relevantes, el paradigma de la morfometría geométrica tiene escasos estudios que incidan en este problema. Por eso, es crucial una reinterpretación de estos conceptos. Strauss (2010) menciona dos tipos de relación entre tamaño y geometría, a saber: la *isometría* y la *anisometría*. En nuestro caso *isometría* es la geometría escalada y *anisometría* todo el resto de los casos. Según este autor la *anisometría* se puede descomponer en la *alometría* y la *no-alometría*. Aquí, nos referimos a una variación alométrica cuando el tamaño puede predecir la geometría mientras que el caso de no-alometría se refiere a variaciones de la geometría que no están acompañadas por cambios de tamaño (Figura B4.1).

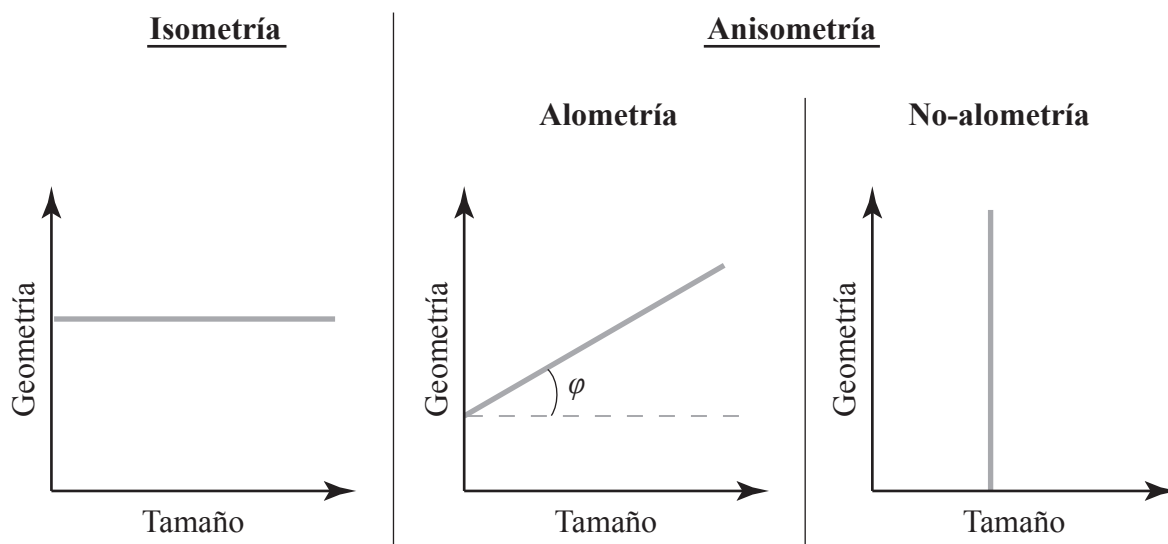


Figura B4.1: Gráficos que presentan las tres posibles tipos de relación entre el tamaño de un objeto biológico y su geometría en el paradigma de la morfometría geométrica. Se puede ver un caso que no está contemplado por la morfometría tradicional el de no-alometría donde tiene lugar cambio geométrico pero no del tamaño.

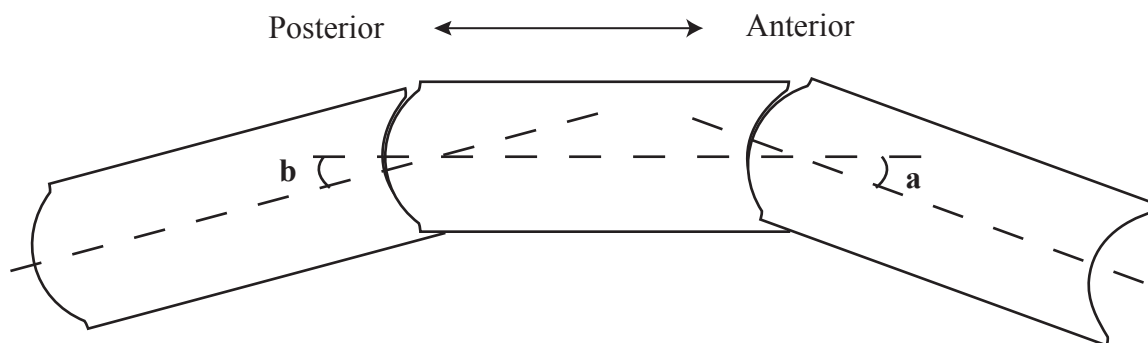


Figura 4.13: Esquema que representa la secuencia de tres vértebras en un ofidio. La dirección del movimiento se determina por la relación entre los ángulos a y b . Para moverse hacia delante se tiene que cumplir la condición $a > b$ (figura modificada de Gray, 1946).

Mientras que al aumentar las dimensiones vertebrales gradualmente (lo que ocurre en la serie anterior de la región precloacal) se cumple este requisito, un aumento ulterior tanto de las dimensiones como del grado de alargamiento la quebrantaría. Pues, la presencia de vértebras grandes y alargadas haría imposible una flexión lateral capaz de mover el organismo. Así que el alargamiento gradual de los centros vertebrales se recompensa con la disminución del tamaño vertebral.

Análisis comparativo de los patrones seriados de la geometría vertebral en las víboras eurasiáticas

En el capítulo anterior se analizó el patrón seriado de la geometría vertebral de cada columna mediante su correspondiente trayectoria en el morfoespacio. Además, dichos patrones se compararon entre los distintos ofidios estudiados. Sin embargo, esta comparación no se basa en valores cuantitativos, pues la comparación de series de objetos no se contempla actualmente por la morfometría geométrica.

La contribución de este capítulo es mostrar una nueva aproximación cuantitativa para el análisis comparativo de trayectorias dentro del morfoespacio basada en la morfometría geométrica. Este nuevo protocolo permitirá la comparación de los patrones seriados de geometría vertebral para las víboras del estudio.

De esta manera, se genera un espacio nuevo (el espacio de trayectorias), cuyos puntos reflejan configuraciones concretas de trayectorias. Por tanto, la variabilidad de los patrones seriados se puede evaluar por la distribución diferencial dentro de este espacio. A su vez las dimensiones del *espacio de trayectorias* explican deformaciones de configuraciones de landmarks que representan la forma de las trayectorias.

La visualización de la variabilidad de los patrones seriados se realiza con la reducción de dimensiones mediante el PCA. Como este PCA se basa en los valores del primer PCA, lo denominaremos “MetaPCA”. Su uso facilita, por un lado, el estudio de la variabilidad de los patrones seriados de la geometría vertebral en las víboras eurasiáticas y por otro lado la interpretación de dicha variación en términos anatómicos aplicando los resultados de los correspondientes PCs.



Método

1. Adquisición de trayectorias

A. Ajuste de modelos a los datos

Las trayectorias de los esqueletos, que se refieren a la expresión matemática del patrón seriado de la geometría vertebral, se ven como curvas dentro del morfoespacio. Como nuestra meta es el análisis comparativo de sus formas, un ajuste en los datos aplicando un polinomio con asunciones *a priori* acerca de su grado con diccionaría los resultados. Por eso se aplican los GAM que no requieren la introducción del grado en el modelo (véase Capítulo de *Material y Métodos*).

Para hallar el modelo que describe cada trayectoria por separado, se usa la posición ordinal como variable independiente y el valor de cada PC (cuarenta en total) como variable dependiente. De esta manera, se genera para cada individuo una curva suavizante en cuarenta dimensiones que es el modelo de su trayectoria (Figura 5.1a).

B. Igualación del número de elementos en las series

Una vez teniendo las curvas que mejor se ajustan en cada individuo, se abstraen como *configuraciones de trayectorias*. Como tal se denomina un conjunto de landmarks cuya distribución relativa en el morfoespacio corresponde a la trayectoria de una estructura seriada, en nuestro caso el esqueleto axial de las víboras. Los landmarks de trayectorias, como los landmarks normales, tienen que cumplir la condición de estar presentes en todas las trayectorias y ser homólogos.

Sin embargo antes de desarrollar los criterios para la elección de los landmarks de trayectoria, tenemos que decidir su número, que ha de ser igual para todas las trayectorias. Este número de landmarks, por un lado, no puede superar el número de vértebras del esqueleto más corto pues en este caso la frecuencia de muestreo a lo largo de la curva sería superior a la frecuencia del muestreo que la generó. Por otro lado, el número de landmarks, tiene que ser lo bastante grande para reflejar fielmente la forma de la trayectoria. En la presente monografía el número de landmarks de trayectoria resultó ser cincuenta para cada serpiente.

La siguiente tarea es tener un criterio para elegir los landmarks de trayectoria. En este caso se tienen que cumplir las condiciones de presencia en todas las trayectorias y de homología. La elección de landmarks depende mucho del objetivo del estudio. Como en nuestro caso lo que se compara son patrones seriados de geometrías vertebrales, lo que nos interesa comparar es el *dónde* y el *cómo* (véase *La variabilidad de la geometría vertebral en las víboras*). Por lo tanto el criterio de homología tiene que ser un criterio posicional. Sin embargo, el uso de la posición

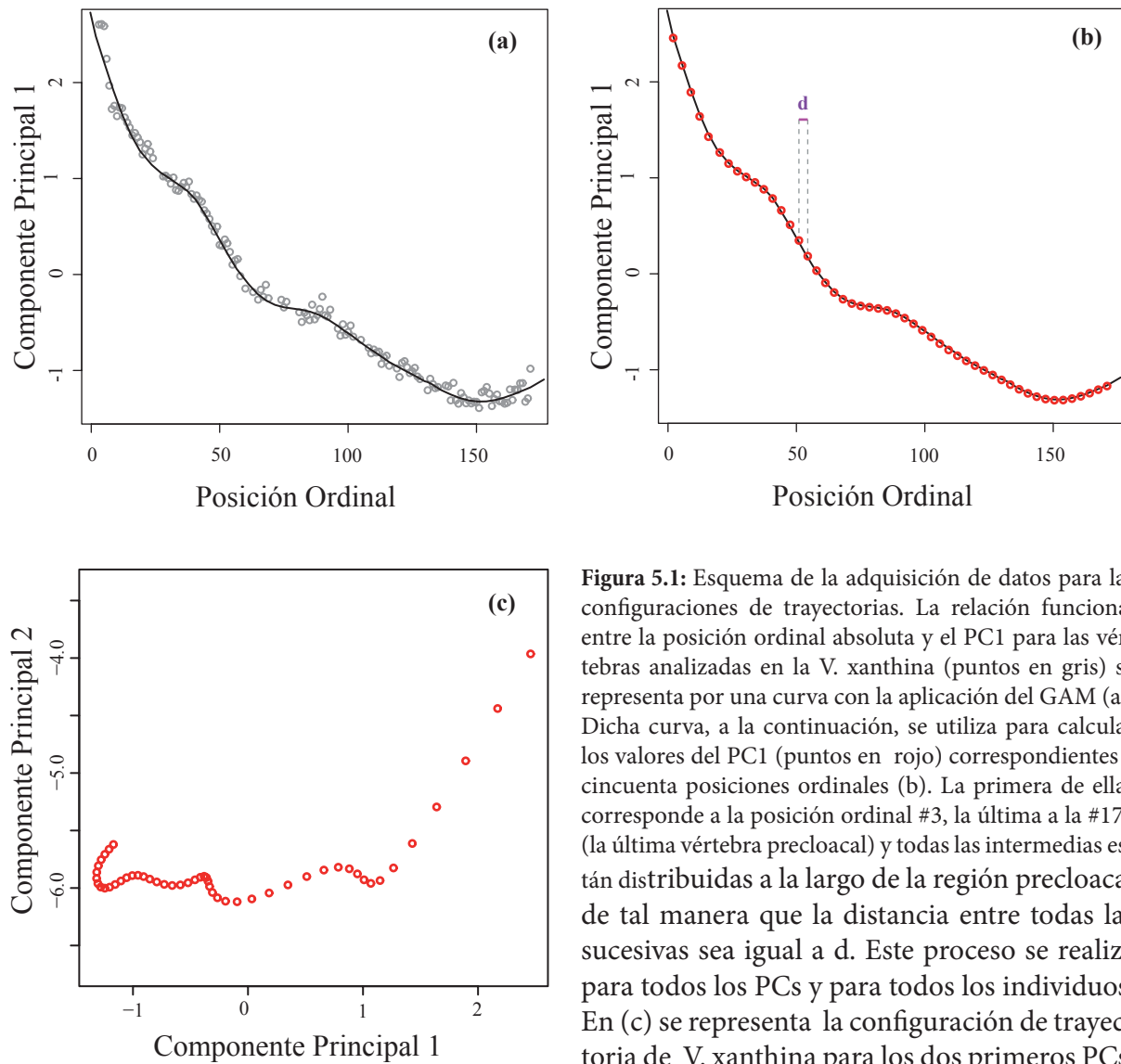


Figura 5.1: Esquema de la adquisición de datos para las configuraciones de trayectorias. La relación funcional entre la posición ordinal absoluta y el PC1 para las vértebras analizadas en la *V. xanthina* (puntos en gris) se representa por una curva con la aplicación del GAM (a). Dicha curva, a la continuación, se utiliza para calcular los valores del PC1 (puntos en rojo) correspondientes a cincuenta posiciones ordinales (b). La primera de ellas corresponde a la posición ordinal #3, la última a la #171 (la última vértebra precloacal) y todas las intermedias están distribuidas a la largo de la región precloacal de tal manera que la distancia entre todas las sucesivas sea igual a d . Este proceso se realiza para todos los PCs y para todos los individuos. En (c) se representa la configuración de trayectoria de *V. xanthina* para los dos primeros PCs.

ordinal absoluta se descarta por quebrantar la condición de la presencia de los landmarks en todas las trayectorias. Pues, el número de vértebras precloacales (tanto total como analizadas) no es igual. Por eso, dicha homología posicional se refiere a la posición ordinal relativa.

Para encontrar cincuenta posiciones a lo largo de cada ejemplar, utilizamos las posiciones ordinales absolutas. Así que como primera posición se elige la #3 que se refiere a la primera vértebra analizada y como último punto se escoge la última vértebra precloacal. El resto de los cuarentaiocho puntos se reparte en distancias iguales entre estos dos extremos. A continuación, se usa el modelo de ajuste para calcular los PC valores que corresponde a cada una de estas posiciones (Figura 5.1b). El resultado de esto es que cada landmark de trayectoria por un lado, corresponde a una posición de carácter relativo (ya que se dividen todos los esqueletos al mismo número de segmentos) y por otro lado sus coordenadas son los valores de todos los PCs calculados a partir de los GAM.



Al final de este proceso la trayectoria de cada víbora se representa por una configuración dentro del morfoespacio. Cada configuración de trayectoria contiene cincuenta landmarks. Dichos landmarks de trayectorias tienen como coordenadas los valores calculados por GAM para cada PC (Figura 5.1c), es decir cada landmark tiene cuarenta coordenadas (como las dimensiones del morfoespacio).

2. Procesado de datos

A. Superposición de trayectorias

Aunque tenemos las configuraciones de trayectorias con un número de landmarks de trayectoria común, no podemos todavía comparar su forma directamente. Como ya hemos visto en la morfometría geométrica la conmensurabilidad de las configuraciones se consigue con la superposición. Sin embargo, en nuestro caso hay una diferencia fundamental. Mientras que en el espacio físico las coordenadas de los landmarks son arbitrarias y sólo su topología relativa es importante, en nuestro caso las coordenadas no lo son. Pues, cada coordenada se refiere a una geometría vertebral concreta.

Teniendo esto en cuenta y la intención de comparar los patrones seriados de los esqueletos axiales y no las geometrías vertebrales absolutas obtenidas, la conmensurabilidad de las trayectorias se garantiza con su traslado. Es decir lo que se compara son las configuraciones de trayectoria *centradas* (véase *BOX 2.1*).

Así que, para cada configuración de trayectoria se calcula el centroide (Figura 5.2a). Después se traslada la configuración de trayectoria entera de tal manera que coincidan todos los centroides en el origen del sistema de coordenadas del morfoespacio (Figura 5.2b). De esta manera se elimina la parte de la información que no nos interesa, a saber, la concerniente a las diferencias entre víboras por diferentes geometrías vertebrales medias. Sin embargo, al mantener la distribución relativa de los landmarks de trayectoria para cada espécimen se conserva la información relativa al patrón seriado de geometría vertebral para todos los individuos.

B. Residuos de trayectorias

En morfometría geométrica una superposición genera las variables geométricas mediante las cuales se representa la geometría de una configuración. Estas variables son los residuos de cada configuración respecto a la geometría media. De esta manera en el caso de las trayectorias, tras centralizarlas todas, se halla la trayectoria media (Figura 5.2c) y a la continuación se representa cada trayectoria mediante sus residuos respecto a esta media. Así que las nuevas coordenadas de cada landmark de trayectoria corresponden a sus desviaciones respecto al landmark correspondiente en la trayectoria de configuración media (Figura 5.2d).

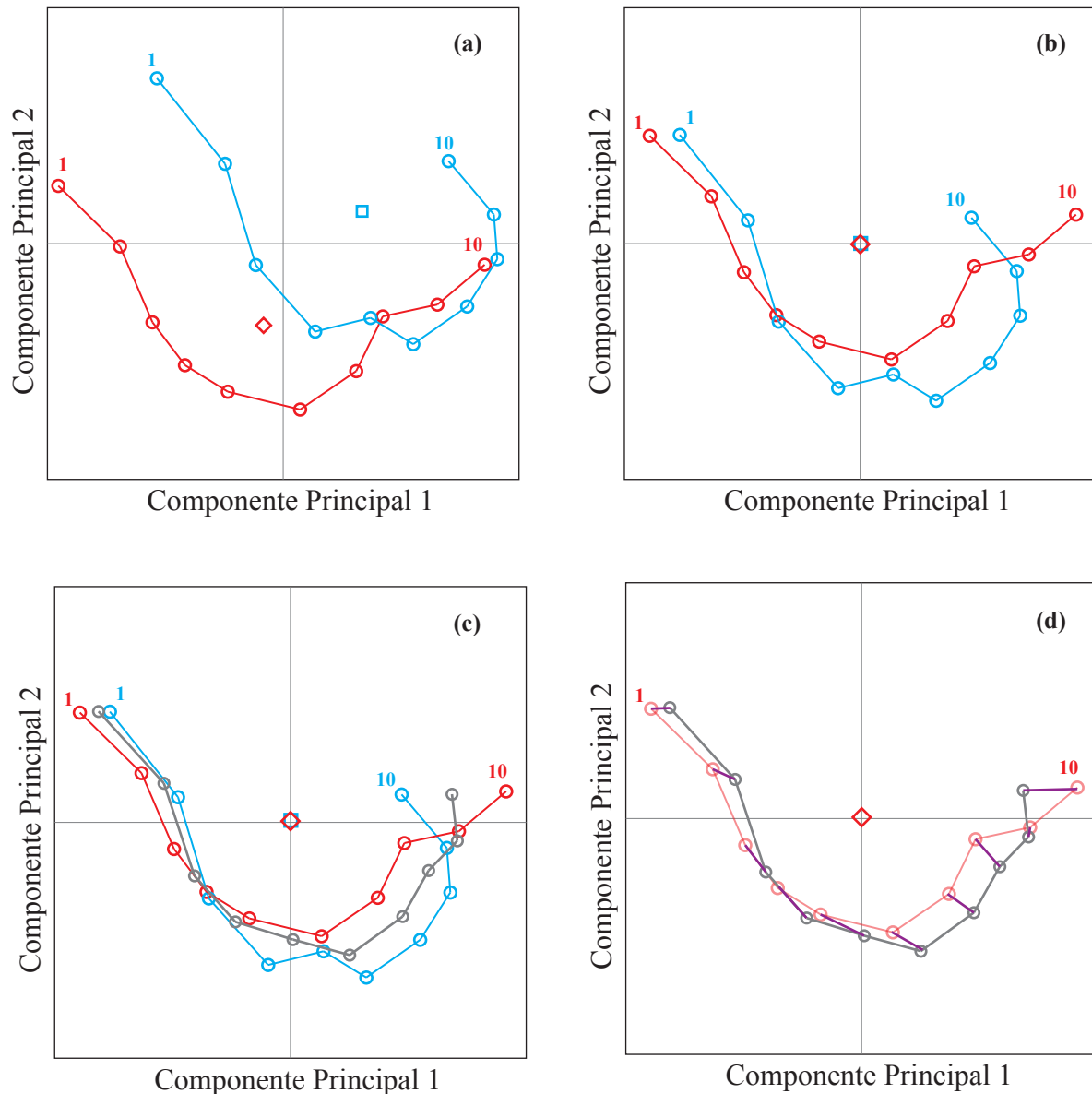


Figura 5.2: El proceso de superposición de dos configuraciones de trayectorias dentro del morfoespacio solamente para los dos primeros PCs. (a) Las configuraciones de trayectoria en su posición original con sus correspondientes centroides. (b) El traslado de las configuraciones con el propósito de llevar sus centroides al origen del sistema de coordenadas. (c) La estimación de la configuración de trayectoria media (en gris). (d) Los residuos de cada landmark de la trayectoria respecto a la media (en morado).

De esta manera cada landmark de trayectoria, y por consiguiente la configuración de la trayectoria entera, se expresará mediante las coordenadas que corresponden a su desviación de la media. Esta nueva expresión es independiente de las posibles diferencias entre las geometrías vertebrales medias de las distintas trayectorias.



3. Espacio de trayectorias

A. Variabilidad de trayectorias

Los residuos de las trayectorias superpuestas son los que generan el espacio de trayectorias. Esto se realiza de la misma manera que lo hacen los residuos de Procrustes para generar el morfoespacio. Cada desviación de la media se descompone en tantos componentes como el número de dimensiones del morfoespacio.

La dimensionalidad del espacio de trayectorias se puede hallar multiplicando el número de dimensiones del morfoespacio por el de landmarks de trayectoria. Sin embargo, la superposición propuesta en la presente memoria contempla solamente el traslado que se realiza dentro del morfoespacio. Por tanto, de la suma anterior se tiene que restar este número de dimensiones del morfoespacio. Así que en nuestro estudio el espacio de trayectorias tiene 1960 dimensiones!

Dentro de este espacio cada trayectoria se representa por un punto, cuya posición depende de la forma de la configuración que corresponde. Por tanto, para estudiar la variabilidad de los patrones seriados en la muestra, lo que se tiene que evaluar es la distribución de las configuraciones de trayectoria dentro del espacio de trayectorias. Dicha distribución se puede visualizar con la aplicación del MetaPCA para reducir la dimensionalidad.

Dicho espacio comparte varias características comunes con el morfoespacio. Por ejemplo, cualquier punto en el morfoespacio representa una geometría concreta de un objeto en el espacio físico. De la misma manera cualquier punto en el espacio de trayectorias corresponde a una forma concreta de trayectoria en el morfoespacio. Sin embargo en lo que se refiere a las variables, mientras que las del morfoespacio contienen solamente información geométrica, las del espacio de trayectorias son centradas. Lo que quiere decir esto es que contienen información tanto de escalado como de rotación.

B. Visualización

El hecho de que cada punto del espacio de trayectorias corresponde a una forma de trayectoria significa que, como en el caso del morfoespacio, cada dimensión del espacio de trayectorias explica una deformación concreta de la configuración de trayectoria dentro del morfoespacio. En realidad a lo largo de cada dimensión se reconocen dos deformaciones antitéticas hacia las dos direcciones. La visualización de estos cambios se visualiza comparándolos con la configuración de trayectoria media (Figura 5.3a)

Sin embargo, nuestro interés es estudiar la variabilidad del patrón seriado. Una visualización como la mencionada anteriormente no nos ayuda a responder fácilmente las pre-

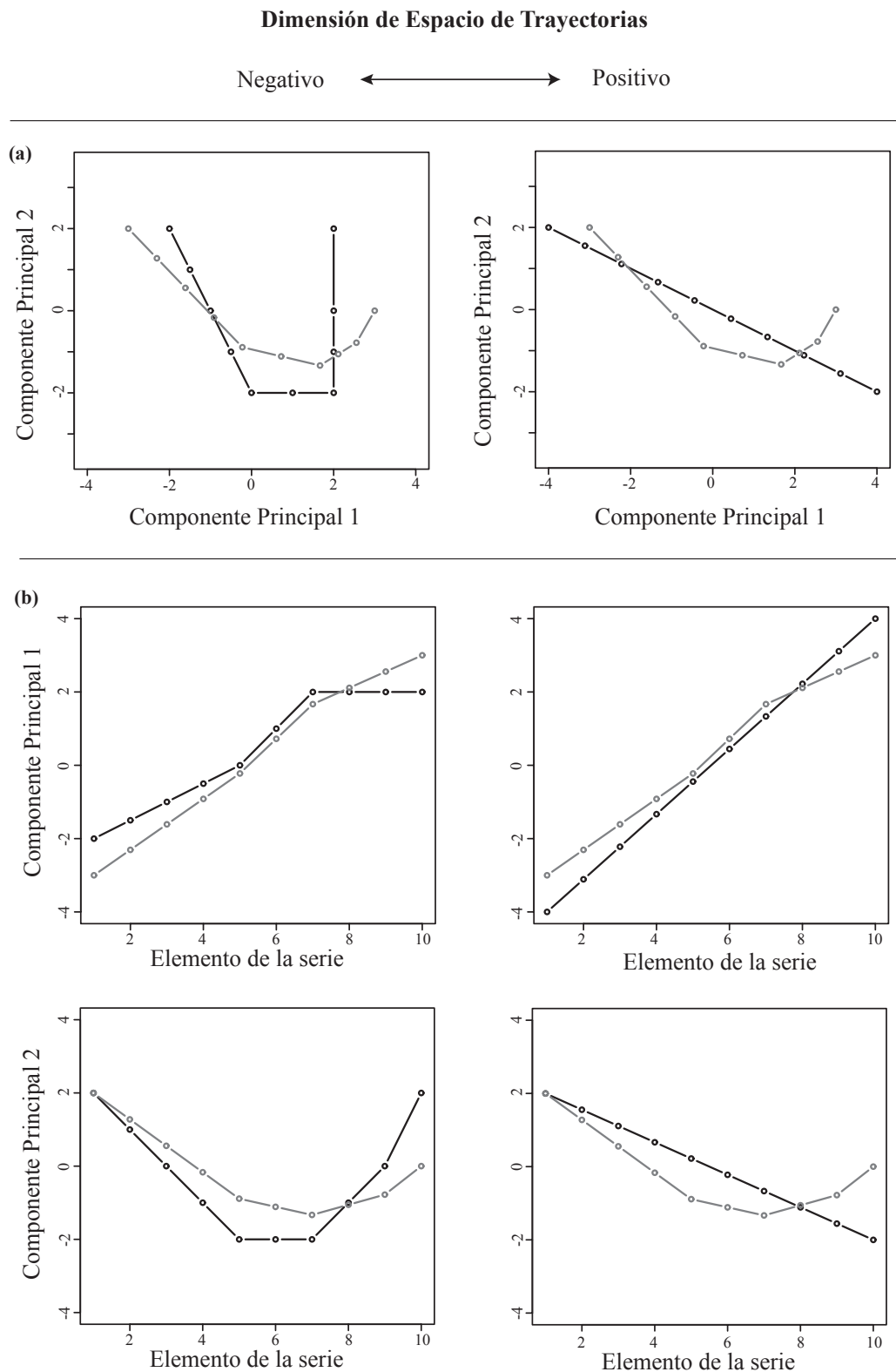


Figura 5.3: La visualización de las deformaciones (en negro) de trayectorias explicadas por una dimensión del espacio de trayectorias respecto a la trayectoria media (en gris). Dichas deformaciones se realizan a lo largo de los PCs del morfoespacio y son dos para cada dimensión que corresponden a su lado positivo y negativo. (a) La deformación de la forma de la trayectoria se muestra dentro del morfoespacio. (b) La mismas deformaciones visualizadas como deformaciones del patrón seriado respecto a las posiciones ordinales relativas. En este último destaca mucho más dónde ocurren estas variaciones cómo se interpretan en el espacio físico. Por ejemplo, para valores negativos de la dimensión de las trayectorias se puede ver que el PC1 pierde influencia a partir del séptimo elemento de la serie, pasando a ser un segmento que se determina por el PC2.



guntas principales: *dónde* y *cómo*. De hecho, el estudio de la variabilidad del patrón seriado entre distintas trayectorias debería evaluar la manera que varían estas dos respuestas entre los especímenes. Por eso, nos interesa visualizar la manera que el patrón seriado varía a lo largo de cada dimensión del espacio de trayectorias respecto al patrón medio. Este patrón seriado se refiere a cada PC por separado. Por lo tanto, la manera de visualizar la variabilidad del patrón seriado es descomponiéndolo en los PCs del morfoespacio y viendo su variación a lo largo de la serie para una dirección de la dimensión del espacio de trayectorias respecto a su variación intracolumnar media (Figura 5.3b).

Por lo tanto, cada dimensión del espacio de trayectorias, y por consiguiente cada metaPC, describe la variabilidad de los patrones seriados de la geometría vertebral en los quince esqueletos. La interpretación de cada metaPC se realiza por separado para cada PC (nos interesan sólo los cuatro primeros) y su variación a lo largo de cada columna.

Resultados

1. El espacio de trayectorias

A. La dimensionalidad del espacio

Realizando el MetaPCA conseguimos reducir la dimensionalidad del espacio de trayectorias. Mientras que en el caso del morfoespacio el número de dimensiones eran 40, en el caso del espacio de trayectorias este número aumenta a 1960. Así que, es una tarea necesaria disminuir este número y privar nuestros datos de la redundancia. Al aplicar el MetaPCA tenemos la importancia de los metaPCs según la varianza que explican (Figura 5.4 y Tabla 5.1). No obstante, el número total de metaPCs se eleva a nada más que catorce, una limitación que se pone por el número de especímenes analizado. Se puede ver que los primeros tres metaPCs son los que explican adecuadamente la variabilidad dentro del espacio de trayectorias, reuniendo entre los tres aproximadamente el 72% de la varianza total de todas las trayectorias.

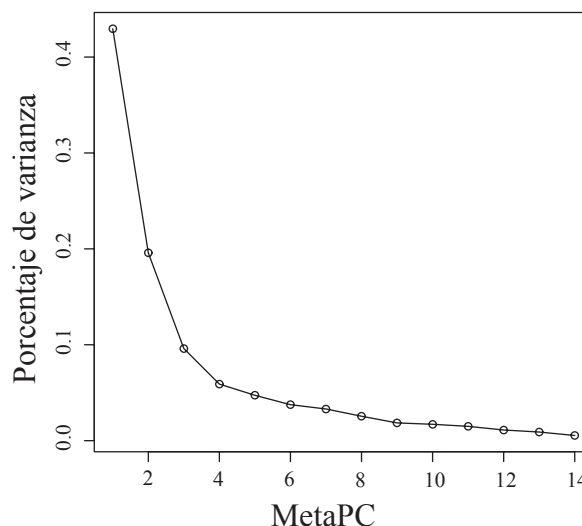


Figura 5.4: El gráfico de sedimentación de la totalidad de los metaPCs del PCA de trayectorias. La máxima varianza se reúne en los tres primeros que se eleva aproximadamente hasta el 72% de la varianza total del espacio de trayectorias. La varianza que explican el resto de los metaPCs no varía significativamente.



	Valor Propio	% Varianza explicada
metaPC1	5,94	42,95
metaPC2	2,71	19,56
metaPC3	1,33	9,61
metaPC4	0,82	5,90
metaPC5	0,65	4,73
metaPC6	0,52	3,75
metaPC7	0,46	3,31
metaPC8	0,35	2,55
metaPC9	0,26	1,85
metaPC10	0,24	1,71

Tabla 5.1: Tabla donde se pueden ver los valores propios de los primeros diez metaPCs del espacio de trayectorias y el porcentaje que estos explican de la varianza total de las formas de las trayectorias en este espacio.

B. La variabilidad de las trayectorias

En la Figura 5.5 se ve la disparidad de los patrones seriados de la geometría vertebral para las víboras eurasiáticas analizadas. Por la distribución de las víboras en el espacio de trayectorias se hace patente, entre los dos primeros metaPCs (Figura 5.5a), que los cuatro complejos ocupan zonas distintas. En concreto, tanto el complejo “*berus*” como el complejo “*aspis*” se distribuyen a lo largo de zonas que se caracterizan por una relación negativa entre los dos primeros metaPCs. Lo mismo ocurre también en el caso de las asiáticas, aunque en este caso los dos complejos de estas últimas se discriminan por los valores del metaPC2 (o el metaPC1). Así se puede ver que el género *Daboia* corresponde a valores del metaPC1 bajos mientras que las víboras orientales a valores del metaPC1 altas (o lo contrario si tenemos en cuenta el metaPC2). Lo contrario ocurre en lo concerniente a la variación entre grupos. Pues, la diferenciación de patrón entre asiáticas – “*aspis*” – “*berus*” se caracteriza por el aumento coordinado de los dos primeros metaPCs.

Otro plano de (menor) interés para el espacio de las trayectorias es el que se constituye por los metaPCs uno y tres (Figura 5.5b). Pues en este plano se hace muy clara la separación de los especímenes pertenecientes al género *Daboia* del resto de las víboras. En lo que se refiere al plano compuesto por los metaPCs dos y tres (figura 5.5c) no destaca ningún patrón concreto de interés.

En lo que se refiere a los metaPCs por separado, por un lado a lo largo del metaPC1 se puede separar el género *Daboia* del resto de las víboras y por otro lado, para el metaPC2 las orientales del resto.



2. Interpretación de las dimensiones del espacio de trayectorias

Como ya se ha mencionado, la interpretación de cada metaPC en términos de forma de trayectoria se realiza por separado para cada PC y así es como se puede ver en la figura 5.6. La deformación de la configuración de trayectoria generada a lo largo del metaPC1 se puede ver en la Figura 5.6a. El PC1, el patrón seriado principal de la geometría vertebral, pasa desde una variación monótona en el caso de los valores negativos del metaPC1 a obtener un punto de flexión (en la posición que corresponde al 60% de la región precloacal) a partir del cual el PC1 afecta muy poco la variación intracolumnar e incluso llega, tras el 80%, a tener un sentido de retorno. En lo que se refiere al PC2, se puede apreciar que hacia los valores negativos del metaPC1 la variación de la geometría de las vértebras anteriores es mucho mayor y se controla principalmente por este PC. El extraño caso del PC3, hacia los valores positivos del metaPC1, tiende a pasar de un tipo de variación periódica (similar a una onda cuya longitud es igual al 80% de la región precloacal) a un estado casi invariable que se rompe para la vértebras más posteriores. Como último es el PC4 que, aparte de su control de las vértebras más posteriores que tiene lugar a lo largo del metaPC1, hacia los valores positivos del metaPC1 parece también controlar la variación geométrica de las vértebras más anteriores.

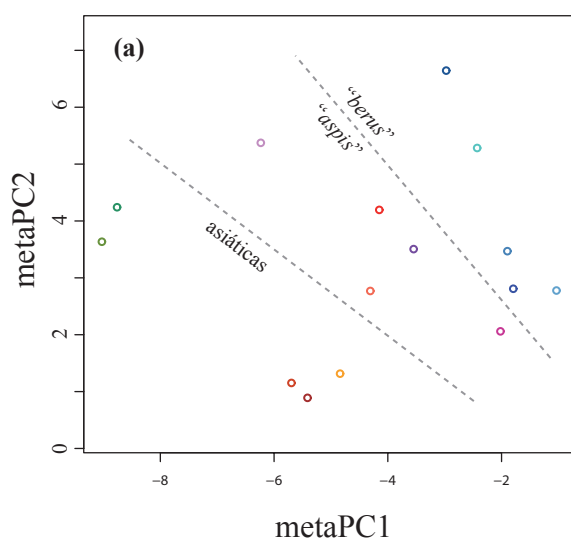
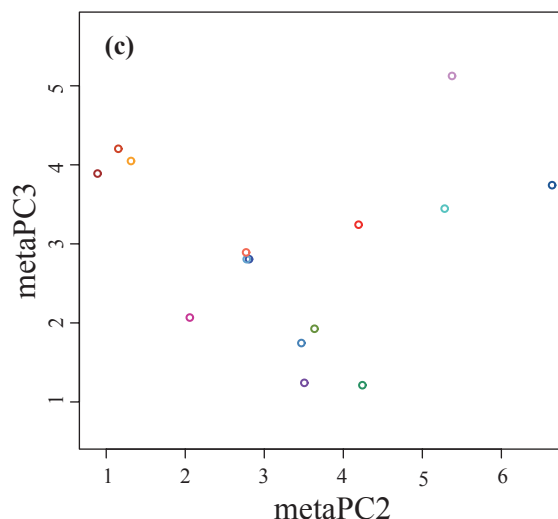
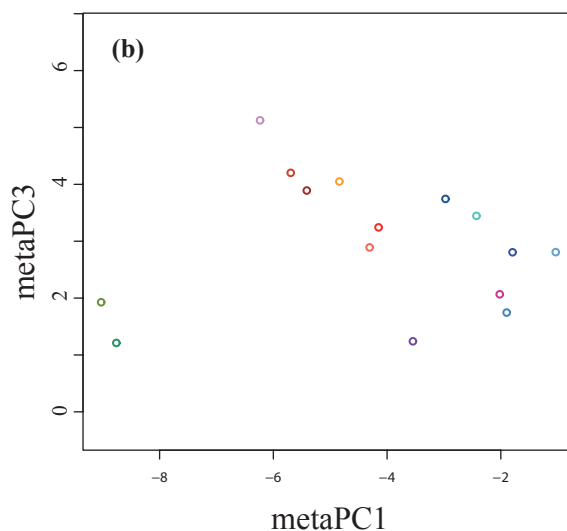


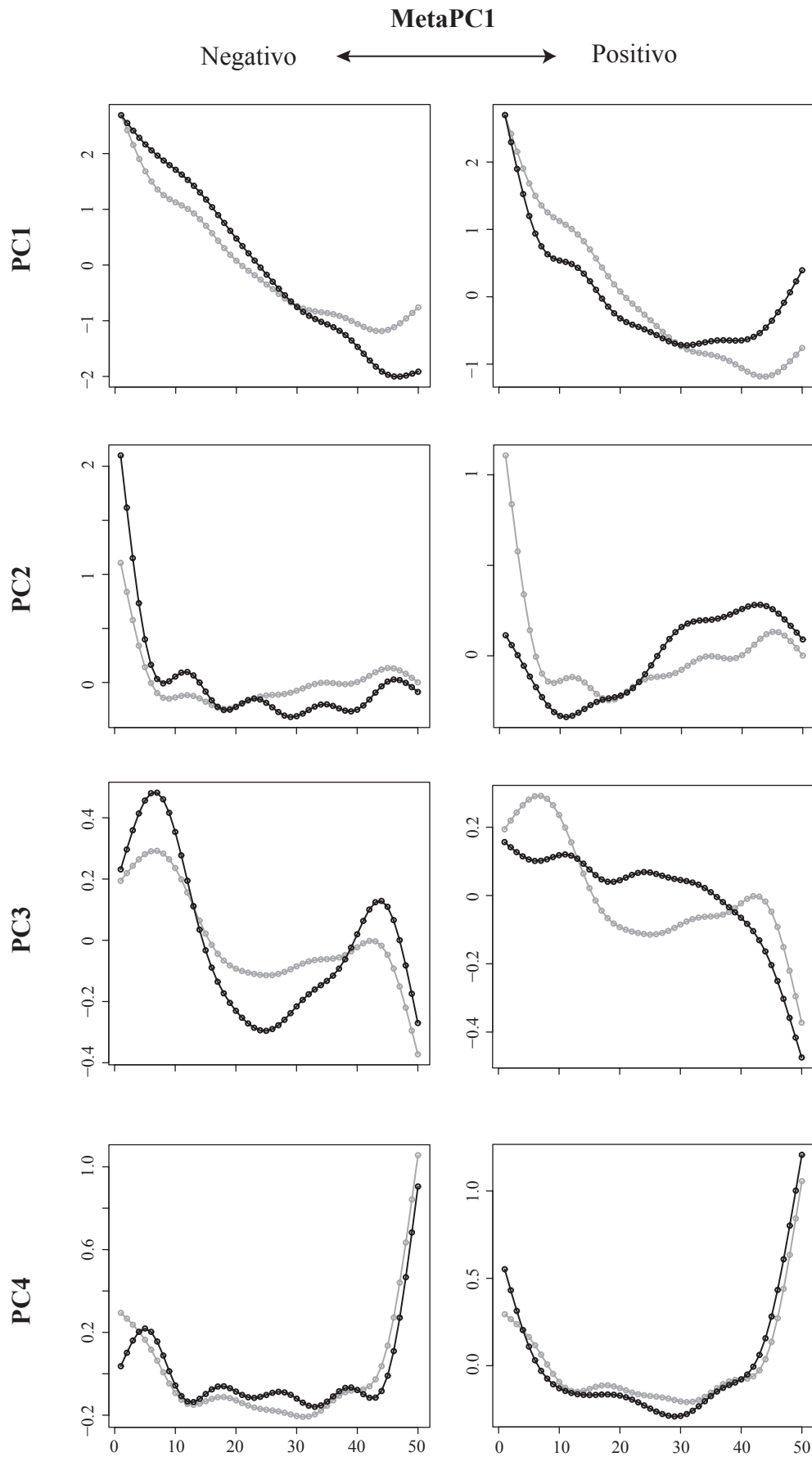
Figura 5.5: La disparidad de las formas de las trayectorias en el espacio de trayectorias proyectada a los planos de los tres primeros metaPCs. (a) Se puede apreciar la distribución diferencial de las trayectorias según el grupo que pertenecen. Así se pueden separar zonas del espacio ocupadas exclusivamente por cada uno de los complejos. (b) Se realiza una separación clara entre Daboia y el resto de las víboras, mientras que en (c) se discriminan las trayectorias de las víboras orientales.

- *Vipera berus* a ○ *Vipera aspis* a ○ *Vipera palaestinae* a
- *Vipera berus* b ○ *Vipera aspis* b ○ *Vipera palaestinae* b
- *Vipera berus* c ○ *Vipera ammodytes* b ○ *Vipera xanthina*
- *Vipera seoanei* ○ *Vipera ammodytes* c ○ *Daboia russelli* c
- *Vipera ursinii* ○ *Vipera latastei* ○ *Daboia russelli* d





(a)

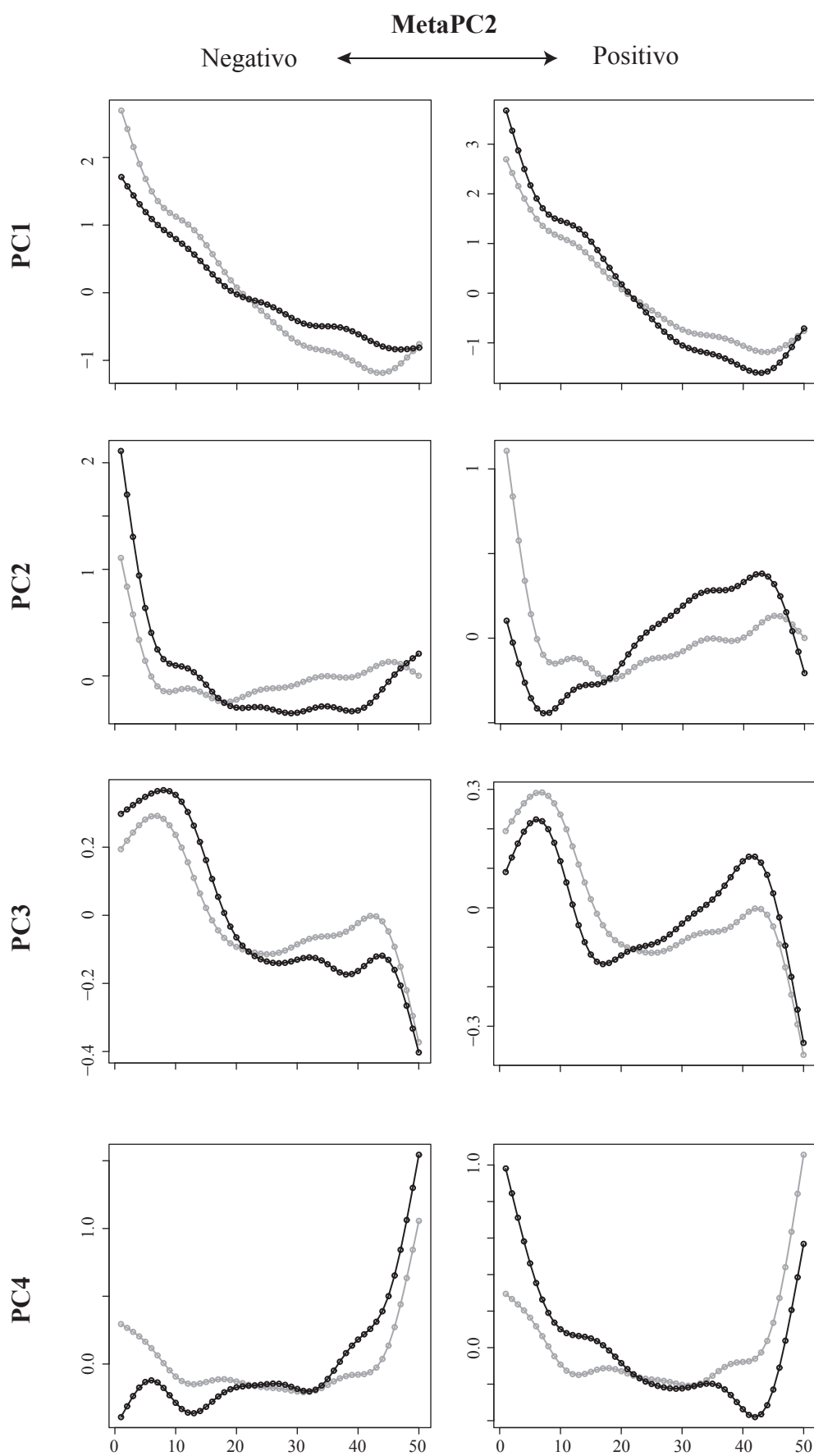


(continúa en la siguiente página)



(continuación de la página anterior)

(b)



(continúa en la siguiente página)



(continuación de la página anterior)

(c)

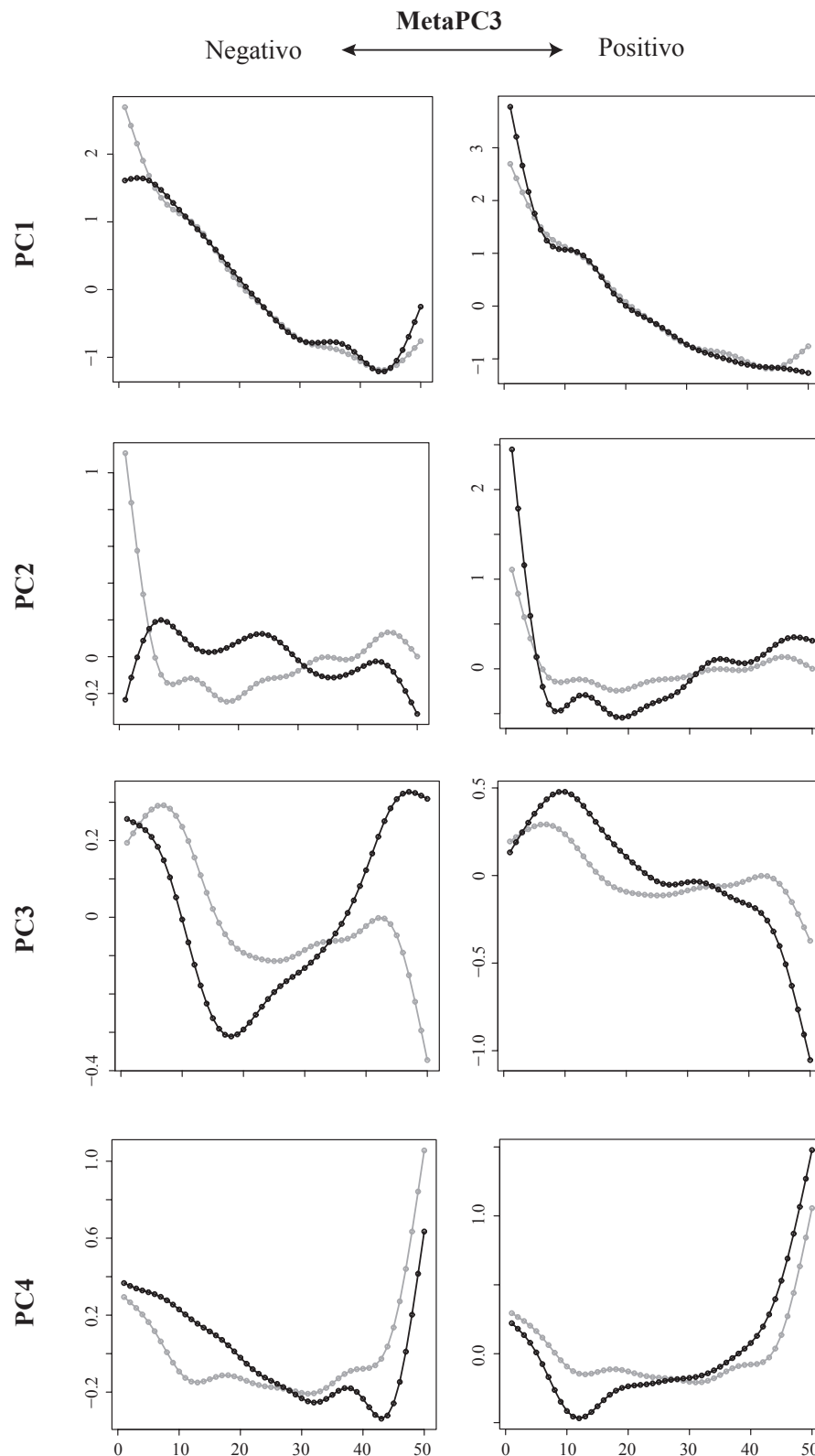


Figura 5.6: Visualización de las deformaciones en la forma de las trayectorias que explican los tres primeros metaPCs: (a), (b) y (c) respectivamente. A cada uno de ellos corresponden dos deformaciones según la dirección (negativo y positivo). Las formas deformadas (en negro) se muestran junto con la trayectoria media (en gris). La deformación explicada por cada metaPC se descompone en cuatro componentes que coinciden con los PCs cuyos valores se visualizan frente a la posición (dicha posición es relativa ya que se refiere a los cincuenta puntos equidistantes en todos los especímenes). Por tanto, lo que se ve es la manera que varía el patrón seriado a lo largo de las dimensiones de este espacio de trayectorias.



El metaPC2 (Figura 5.6b) controla la contribución total del PC1 sobre el patrón seriado de la geometría vertebral, en concreto hacia los valores negativos del primero esta influencia disminuye. Por otro lado la manera que afecta el metaPC2 el PC2 es similar a la del metaPC1, así que para valores negativos del metaPC2 el PC2 controla la variación geométrica de las vértebras más anteriores. En el caso del PC3 su influencia pasa de la variación de las vértebras anteriores (hasta el 40% de la longitud precloacal) a la de las posteriores (el 20% más posterior de la región estudiada) para valores negativos y positivos del metaPC2 respectivamente. Como último el PC4, para valores negativos del metaPC2, explica la variación de las vértebras posteriores (el 30% más posterior) mientras que para valores positivos tanto las más posteriores (el 20% aproximadamente) como las anteriores (principalmente el 20% más anterior y menos el 20% adyacente).

La importancia del PC1 a lo largo del metaPC3 está restringida sólo en los dos extremos de la región precloacal (Figura 5.6c). Así que para valores positivos del metaPC3, el PC1 influye sólo las geometrías vertebrales más anteriores mientras que para valores negativos describe un regreso del patrón en las más posteriores. El PC2 tiene un papel crucial a la variación de las más anteriores cuando el metaPC3 obtiene valores positivos. Por otro lado el PC3 influye el patrón seriado sólo de las más posteriores para los valores positivos del metaPC3. Al final el PC4, hacia los valores positivos del metaPC3, influye tanto las geometrías vertebrales más anteriores como las posteriores.

A lo largo del **metaPC1** se aprecia la contribución diferencial del PC1 y en concreto desde una situación uniforme para los valores negativos pasamos a su anulación posterior para los valores positivos. El PC2 controla el patrón de las geometrías más anteriores para los valores negativos. El PC4 afecta de manera contraria los patrones de las geometrías anteriores y posteriores. Con el **metaPC2** se controla la contribución total del PC1 a lo largo de la región precloacal que es más alta para los valores positivos del metaPC2. Los valores negativos del primero aumentan el control del PC2 sobre el patrón seriado de las geometrías anteriores. El PC4 determina de manera contraria los patrones a lo largo de las vértebras más posteriores y más anteriores. En el caso del **metaPC3**, el PC1 controla de la misma manera las vértebras más anteriores y más posteriores hacia la dirección positiva y negativa del primero respectivamente. Los valores positivos del metaPC3 otorgan el control del patrón seriado de las vértebras más anteriores al PC2. Como último el PC4 influye de la misma manera el patrón seriado de la geometría vertebral en las más anteriores y posteriores para valores positivos del metaPC3.

Las varianzas en los cuatro metaPCs guardan el mismo patrón. De modo que salvo en casos puntuales todo se puede explicar a partir del Meta PC 1. Los valores negativos y positivos explican las varianzas asociadas a lo largo de los 50 landmarks elegidos. De modo que, por ejemplo el PC2 muestra con Meta PC1 (también con el meta PC2) que existe una correspondencia entre los cambios morfológicos (muy grandes) de las primeras vértebras, cuando a partir del 50%



del cuerpo los cambios en la morfología vertebral son mucho menores (valores negativos del metaPC1). Mientras que en los positivos, se da que los cambios morfológicos de las primeras vértebras son sutiles, pero en cambio son muy drásticos los que suceden a partir del 50% de la precloaca. Mientras el PC1 con el metaPC1 muestra que existe un cambio gradual a lo largo de la serie axial, con extremos caracterizados por morfologías vertebrales generales muy distintas. La variación en forma se concentra en la parte posterior. El PC3 con el metaPC1, resulta ser componente de mayor variación, pues muestra otras combinaciones con el metaPC2. Pero en términos generales lo que nos está indicando es que hay fuertes variaciones en la zona central de la precloaca.

En general el modelo nos indica que aquellas víboras con grandes variaciones en las morfologías de la serie anterior del esqueleto, tienen cambios morfológicos más drásticos en la región central del esqueleto axial. Mientras que las víboras que muestran cambios menores en la región anterior de la serie, también tienen variaciones menores en la zona media, pero en cambio relativamente grandes en la región posterior precloacal.

3. La distribución de las trayectorias

La aplicación del MDS se realiza sobre las distancias de las trayectorias dentro del espacio de trayectorias, teniendo en cuenta todas sus dimensiones. Así se genera un espacio bidimensional donde mejor se reflejan las distancias entre las geometrías de las trayectorias de las serpientes (Figura 5.7). Dichas distancias se calculan teniendo en cuenta todas las dimensiones del espacio de trayectorias. Esta distribución es igual que la que tenemos en el plano compuesto por los dos primeros metaPCs (lo único que varía entre las dos gráficas es el signo que en ambos métodos es arbitrario).

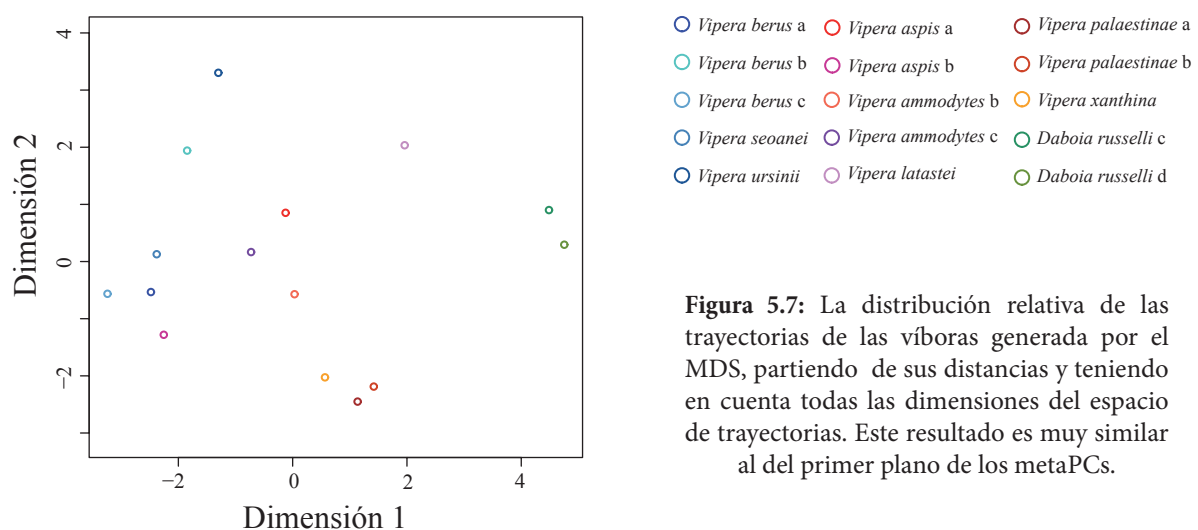


Figura 5.7: La distribución relativa de las trayectorias de las víboras generada por el MDS, partiendo de sus distancias y teniendo en cuenta todas las dimensiones del espacio de trayectorias. Este resultado es muy similar al del primer plano de los metaPCs.



Discusión

Dos aportaciones principales se pueden destacar en el presente capítulo. Por un lado, se propone un nuevo protocolo que permite la comparación cuantitativa holista entre patrones seriados de geometrías de objetos. Por otro lado, es una contribución al estudio de la columna vértebra de las víboras aportando información acerca de la organización de ellas y en concreto integrando la variabilidad entre los cambios en geometría de las vértebras y el patrón seriado de la región precloacal en las víboras.

El nuevo protocolo propuesto respeta la visión holista de la columna vertebral (véase *Introducción*), tratándola como unidad. En este contexto el estatus ontológico de la vértebra queda en segundo plano, formando parte solamente del patrón general de la región precloacal. El patrón este se expresa matemáticamente mediante su trayectoria dentro del morfoespacio. El estudio comparativo de la forma de esta trayectoria (que supone la unidad comparativo para nosotros) y no el que se centra en los elementos marca la diferencia entre una aproximación holista y una reduccionista.

Dicho protocolo nos da la posibilidad de diferenciar los complejos de víboras según su patrón seriado de geometría vertebral y además inferir las restricciones de este último dentro del mismo grupo. Dicha diferenciación se complementa por la interpretación de la variabilidad observada en términos de formas de trayectorias y consecuentemente en lo relativo a la geometría vertebral.

1. Un nuevo protocolo para la comparación holista de patrones seriados

A. La digitalización de las trayectorias

Contrariamente a lo que sucede cuando se trata de geometrías únicas con sus correspondientes coordenadas en el morfoespacio, al comparar la forma de las trayectorias el número de los objetos que componen cada serie puede no ser el mismo,. Esta desigualdad en algún caso se justificará por cuestiones observacionales o bien construccionales. La muestra estudiada de víboras combina ambas circunstancias. Para ello la aplicación de GAM permite abordarlo al generar una función continua por interpolación y sin emplear ninguna asunción a priori. En nuestro caso, un número de landmarks mayor que el de las vértebras analizadas no tiene sentido, de modo que al elegir cincuenta para cada trayectoria, no se superaba el número mínimo de vértebras analizadas por individuo además de describir eficientemente la forma de todas las trayectorias.

Un punto crucial para este tipo de estudio es el criterio de la correspondencia entre landmarks de trayectoria. Mientras que en el caso de los objetos singulares la anatomía comparada ha establecido homologías, en el caso de las series vertebrales se podrían establecer



en puntos entre regiones, que corresponden a cambios cualitativos. Pero como sabemos esto no es posible en serpientes. En nuestro contexto dos aproximaciones parecen razonables. Se pueden establecer correspondencias entre landmarks basándonos en la configuración de las trayectorias. En este caso se reconocerían puntos de inflexión comunes presentes en todas las trayectorias. Esto sería equivalente a los tipos de landmarks definidos en la morfometría geométrica que se refieren a características locales (Bookstein, 1991). No obstante, este tipo permite una comparación abstracta de las trayectorias presuponiendo además una valoración cualitativa previa de las formas de las trayectorias. Otro criterio es relacionar los landmarks con las posiciones en las trayectorias. Dicho criterio posicional facilita las interpretaciones y se refiere al organismo. La correspondencia se basa en la posición ordinal relativa de los landmarks, y en concreto posiciones ordinales equidistantes es el criterio más adecuado, si no existe alguna razón especial.

B. La superposición de trayectorias

La conmensurabilidad de la forma de curvas bajo el paradigma de la morfometría geométrica se garantiza con su superposición en un sistema de coordenadas común (véase *Material y Métodos*). Durante dicho procedimiento se realiza el traslado, el escalado y la rotación de las configuraciones con el propósito de obtener los residuos de Procrustes que son variables geométricas. Mientras que esto se puede aplicar en configuraciones cuyas coordenadas están tomadas en un sistema de coordenadas arbitrario como el mundo que nos rodea (pues no parece haber un sistema de coordenadas universal), en el contexto del morfoespacio de trayectorias la situación es diferente. Las configuraciones de trayectorias están representadas por landmarks, cuyas coordenadas son valores de los PCs. Esto significa que estamos ante un caso donde no hay arbitrariedad pues reflejan las geometrías vertebrales del espacio físico. Por tanto, la tarea de superponer es clave pues estaríamos afectando los datos, en concreto se debe mantener el nexo entre el espacio matemático (tanto el morfoespacio como el espacio de trayectorias) y el espacio físico. Al trasladar (Figura 5.8a) todas las configuraciones de trayectorias a un centro común, hallando el centroide de cada configuración (la media de todas las coordenadas de los landmarks de la configuración) restamos esta media de las coordenadas de todos los landmarks de la configuración. De esta manera, todas las configuraciones de trayectoria tienen un centroide que coincide con el origen del sistema de coordenadas, anulando la variación individual, pero conservando la relación entre geometrías vertebrales que se encuentran a lo largo de la misma serie. Este último significa que el patrón seriado de la geometría vertebral se mantiene intacto para todos los individuos.

El escalado (Figura 5.8b) anula las diferencias de tamaño entre las configuraciones estudiadas. Al escalar se mantiene la geometría de una configuración cambiando su tamaño. Mientras que esto tiene muchas ventajas en el caso de los objetos biológicos, las consecuencias en el

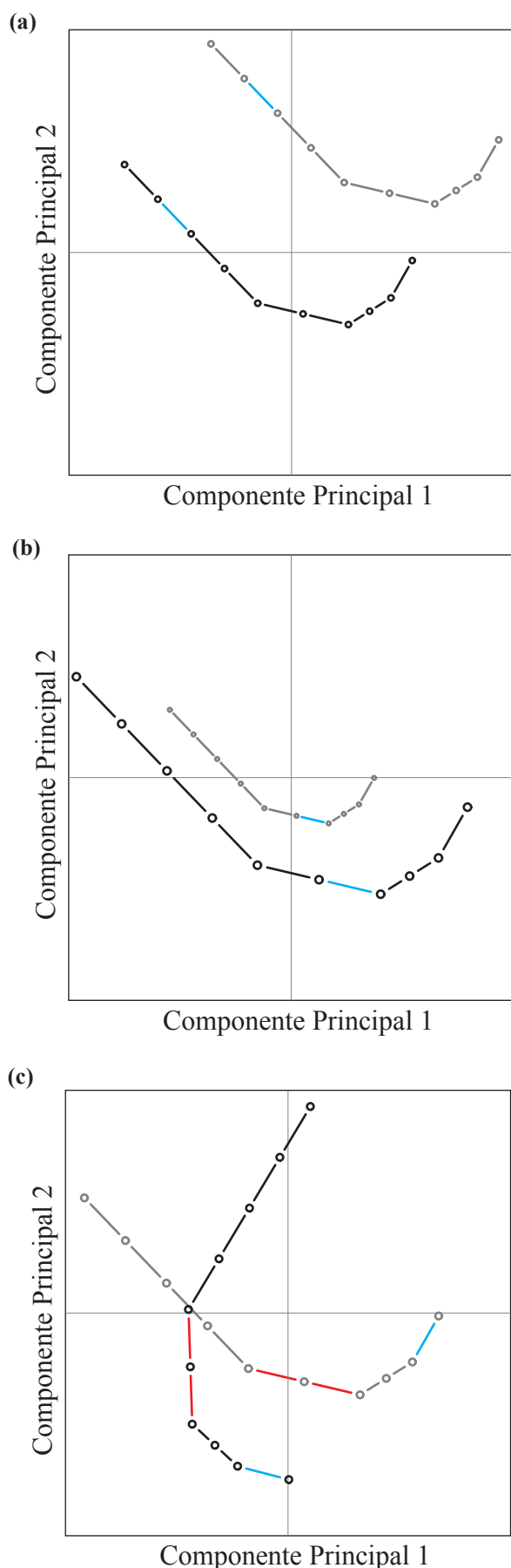


Figura 5.8: Esquema explicativo de las consecuencias de la superposición en las configuraciones dentro del morfoespacio. Se muestra la condición inicial (en gris) y la final (en negro) de cada caso. (a) Traslado: mientras que la distancia de Procrustes cambia entre un punto de la configuración y un punto externo, esta distancia entre puntos de la misma configuración queda igual (en azul). (b) Escalado: La distancia de Procrustes entre dos puntos de la misma configuración cambia (en azul). (c) Rotación: Las distancias dentro de la configuración se mantienen (en azul), pero cambiando la orientación se ve afectada la interpretación física de la trayectoria. Pues, mientras que el segmento rojo describe un patrón seriado donde predominaría la interpretación física del PC1, con la rotación la deformación geométrica quedaría explicada por PC2. De esta manera se perdería el sentido real de la trayectoria.

morfoespacio de trayectoria son distintas. Al escalar la configuración de una trayectoria lo que se hace realmente es estandarizar la variación geométrica de las vértebras para todos los individuos. La consecuencia de esto es que se representa el grado de variación geométrica que existe a lo largo del patrón seriado. Pues, la distancia Procrustes entre dos vértebras consecutivas, que forma parte importante de patrón seriado, se influye gravemente.

Finalmente con la rotación (Figura 5.8c) de las configuraciones se promueve que la suma de los residuos de Procrustes sea la mínima. La consecuencia principal de la rotación de las configuraciones de trayectorias es el cambio de orientación respecto a la original y consecuentemente respecto a los PCs que son las variables geométricas. Suponiendo que tenemos una configuración paralela al PC1 y la giramos de tal manera que sea perpendicular a él entonces modificaríamos el patrón seriado de la geometría vertebral. Pues, la variación no se localiza ya a lo largo del PC1 y consecuentemente la interpretación física que vamos a obtener será totalmente arbitraria. Así que, evitando la rotación mantenemos el nexo necesario con el espacio físico.



C. Interpretación de las dimensiones del espacio de trayectorias

Como ya se ha visto en el capítulo anterior la cuestión principal que nos concierne en el presente estudio de patrón seriado de la geometría vertebral es el *donde* y el *cómo*. Mientras que la primera parte se responde fijándonos en el morfoespacio y en concreto en la variación de los PCs según la posición ordinal, la segunda se responde con la descripción de las deformaciones de la configuración de landmarks que tienen lugar para cada PC.

Con el uso del espacio de trayectorias se puede ver la manera con la cuál varían las dos respuestas. En concreto, la manera que varía el *donde* para el patrón seriado se refleja en los metaPCs y la manera que influyen a los PCs. La variación del *cómo* se ve por el hecho de que cada metaPC se descompone a PCs que a su vez describen deformaciones en el espacio físico. De esta manera se entiende la razón por la cual el PCA de trayectorias se aplicó a los valores de los PCs. Si no fuese este el caso, no habría un nexo claro con el espacio físico.

Por lo tanto, cada metaPC explica de qué manera cambia cada patrón seriado atribuido a los PCs. Esto significa que podemos ver donde cambia cada patrón a lo largo de cada metaPC. Esto principalmente se refleja en la tasa de variación de los valores de cada PC según la posición ordinal. Por eso las deformaciones que explican los metaPCs se refieren a cada PC pero con su relación con la posición a lo largo de cada columna.

Los metaPCs se pueden descomponer en los PCs y explicar su variación mediante ellos. En el presente análisis nos limitamos a los cuatro primeros PCs, pues son los que explican la máxima variación de la muestra (capítulo IV). El hecho de que se descomponen en PCs significa que se pueden investigar sólo concretos *cómos* y no todos los posibles, es decir que no se puede evaluar un abanico continuo de deformaciones sino sólo las que se explican por los PCs elegidos. Sin embargo, el criterio de elegir estos PCs se basa en el hecho de que son los que explican mayoritariamente la variación geométrica de la muestra.

Sin embargo, una solución alternativa podría ser la superposición de las trayectorias utilizando los valores originales y luego generar los PCs y los metaPCs. Aunque, los resultados de este análisis no se distancian mucho en el presente estudio, su aplicación no parece ser conveniente. Ante todo, en tal caso el primer PCA no serviría para mucho, ya que se imposibilita un estudio comparativo entre las geometrías vertebrales absolutas de cada esqueleto. Además, sus resultados finales no podrían ser comparables con los del capítulo anterior, por el hecho de que cada análisis se refiere a distintas deformaciones en el espacio físico, es decir, hacen evaluación de distintos patrones seriados de geometría vertebral.



D. ¿Por qué un protocolo nuevo?

En la *Introducción* nos referimos a algunas aproximaciones al estudio comparativo entre series de objetos. En todas estas destaca el factor del elemento frente al patrón general de la serie. Sin embargo hay que dejar claro en este punto que cuando nos referimos a una “serie de objetos” no tienen por qué ser exclusivamente espaciales, pues este tipo de comparaciones incluyen también trayectorias de series temporales (O’Higgins *et al.*, 2010). Es precisamente en esta dirección donde se ha desarrollado la herramienta de comparación de trayectorias que propusieron Dean Adams y Michael Collyer.

En una serie de artículos Collyer y Adams (2007); Adams y Collyer (2007 y 2009), desarrollan una metodología para comparar trayectorias fenotípicas evolutivas. En su estado más completo comparan la longitud, la orientación y la geometría de cada trayectoria, entre pares de trayectorias y nunca incluyendo el conjunto total de las mismas. Como longitud de cada trayectoria se toma la suma de las distancias euclideas entre los niveles consecutivos, la orientación de cada una coincide con la orientación de su PC1 y su geometría se define por los residuos con la trayectoria media. Sin embargo, existe una serie de discordancias respecto a la aproximación que aquí se desarrolla. La orientación se determina por el PC1 de cada trayectoria, es decir que cada trayectoria se analiza con el PCA por separado. Ello supone que puede generar resultados no comprobables entre las trayectorias y también que se simplifica demasiado la trayectoria otorgándole una única dirección. Por otra parte, al obtener los residuos, que representan la geometría de cada trayectoria, se realiza una superposición de Procrustes. Las consecuencias indeseables de este proceso en los datos se desarrollaron anteriormente.

Por lo tanto, se puede destacar que aunque es una aproximación que tiene en cuenta la trayectoria entera está limitada en realizar comparaciones entre pares de trayectorias y no estudiar la variabilidad en la muestra entera. Además carece de una herramienta de visualización directa de la variación estimada (no se sabe el *cómo*). La simplificación de tener una orientación única para cada trayectoria nos impide detectar variaciones posicionales del patrón seriado (no tenemos información acerca del *dónde*). Por último, el análisis comparativo se limita solamente en casos donde las series comparten el mismo número de elementos.

El protocolo propuesto en este capítulo tiene en cuenta dichas limitaciones. Nuestra intención es contribuir hacia una metodología más intuitiva que pueda hacer uso de las herramientas de la morfometría actual, generando un nuevo espacio de trayectorias donde se hace una comparativa global de las trayectorias y un traslado al espacio físico para visualizar el patrón seriado.



2. La columna vertebral de las víboras eurasiáticas

El resultado del análisis de la variabilidad de los patrones seriados de la geometría vertebral de las víboras eurasiáticas nos revela un espacio de trayectorias empírico donde los distintos complejos tienen bien definidas sus zonas (Figura 5.5a y 5.7). A partir de sus distancias teniendo en cuenta todas las dimensiones del espacio de trayectorias, se puede hacer la correspondencia con los valores positivos y negativos que resultan de los metaPCs.

Las zonas que caracterizan a cada complejo se desarrollan a lo largo de tres ejes que revelan una relación negativa entre los dos primeros metaPCs. Así tenemos el eje de las víboras del complejo “*berus*” para valores del metaPC1 elevados, el eje de trayectorias intermedio que corresponde al complejo “*aspis*” y finalmente el eje de las víboras asiáticas. Este último se divide en dos: las víboras orientales que responden para valores altos del metaPC2 y el género *Daboia* para los valores bajos de este metaPC.

Las formas de las configuraciones de trayectorias de cada complejo presentan algunas restricciones. Como la orientación de estas rectas revela una relación negativa de los metaPCs, se puede decir que para mantenernos en el mismo complejo a la hora de aumentar los valores del metaPC1 se tienen que disminuir los valores del metaPC2 o lo contrario.

Lo más destacable de esta relación se puede ver para el PC1. El papel del PC1 en el patrón seriado de la geometría vertebral en las víboras se desarrolló en el capítulo anterior. Así hemos visto que los cambios anatómicos explicados por este PC forman el gradiente dominante a lo largo de la región precloacal. Su conducta a lo largo de los dos metaPCs se puede diferenciar. Pues, lo que el metaPC1 describe es el grado de influencia del PC1 a lo largo de la columna, desde un estado monótono y uniforme para los valores negativos del metaPC1 hacia un cese relativo de su influencia a partir de la mitad del esqueleto (Figura 5.6a). Por el otro lado, la lectura para el metaPC2 es levemente distinta, pues en esta dimensión lo que cambia es el grado de la influencia total y uniforme a lo largo de la columna que aumenta hacia los valores positivos del metaPC2 (figura 5.6b). Sabemos que para mantenernos en el mismo complejo de víboras tiene que haber una relación negativa de estos dos metaPCs. Esto significa que dentro de estos grupos el cese de la influencia del PC1 al patrón seriado de la geometría vertebral está vinculado con una disminución de la importancia de este PC a lo largo de la región estudiada.

Este paso tiene lugar tanto en las víboras del complejo de “*berus*” como en las de “*aspis*” pero, sin embargo, en el caso de las asiáticas significa la transición de las orientales hacia las del género de *Daboia*. Así que estas últimas se caracterizan por una influencia del PC1 relativamente alta y uniforme a lo largo de la región precloacal, mientras que las orientales se caracterizan por menos influencia por el PC1. Además, el género *Daboia* es el único grupo de la muestra que se puede diferenciar del resto de las víboras eurasiáticas exclusivamente por los valores del metaPC1. De esta manera, se puede decir que dicho género se caracteriza por formas donde más se expresa la persistencia de un gradiente anatómico expresado por el PC1.



Hay que destacar aquí que los tres ejes que corresponden al complejo “berus”, “aspis” y las víboras asiáticas no tienen la misma pendiente, es decir, la tasa de cambio de los dos metaPCs ni es la misma para cada grupo ni su relación permanece estable. Esto significa que el ratio entre la tasa de variación del metaPC2 con el metaPC1 disminuye progresivamente a lo largo de la serie “berus” – “aspis” – asiáticas. Esto indica que para cada uno de estos grupos la tendencia que tiene el aumento en la contribución del PC1 es más alta que la homogeneización del patrón seriado de la geometría vertebral.

En lo que se refiere a la diferenciación de patrones seriado entre “berus”, “aspis” y asiáticas, ocurre lo contrario. Pues, desde una contribución baja del PC1 pero a la largo de la trayectoria entera en el caso de las asiáticas hacia las del complejo “berus” se obtienen trayectorias fuertemente influidas por el PC1 pero que se están circunscritas a la serie de vértebras anteriores.

Subdivisión de la región precloacal de las víboras

La pérdida de las extremidades está altamente correlacionada con el alargamiento del cuerpo y la homogenización de la anatomía vertebral. Este último fenómeno es extremo en la región precloacal de las serpientes, y tiene como consecuencia la imposibilidad de subdividir dicha región en sus partes cervical y troncal. En algunos grupos de serpientes las vértebras anteriores son las únicas que poseen hipapófisis. En este caso la descomposición de la región precloacal en cervicales y troncales es una tarea fácil. Sin embargo, cuando la totalidad de las vértebras precloacales tienen hipapófisis (e.g. las víboras), el problema de la regionalización es evidente. De esta manera, sólo se reconocen tres regiones en el esqueleto axial de los ofidios, a saber, la región precloacal, cloacal y caudal.

Dichas tres regiones muestran variaciones cualitativas (véase *Introducción*). Sin embargo, a lo largo de cada región tiene lugar variación cuantitativa, es decir variación geométrica de las vértebras. La expresión de la relación de estos dos tipos de variación en la naturaleza se hace mediante la primera ley de la dialéctica, la ley de la transformación. En concreto el salto cualitativo está vinculado con una variación cuantitativa significativa.

La variación cuantitativa en nuestro estudio se estima por la distancia geométrica entre dos vértebras consecutivas. En este contexto, la meta del presente capítulo es detectar posiciones a lo largo de la región precloacal que señalan umbrales de cambios morfológicos relativamente abruptos.

Método

La cantidad de variación entre dos vértebras consecutivas se estima en el presente estudio mediante la distancia Procrustes. Así que, para eso se utilizan las configuraciones de trayectorias compuestas por los cincuenta landmarks que corresponden a puntos equidistantes en cada región precloacal dentro del morfoespacio. Dichos landmarks, reflejan una geometría vertebral



concreta que se estima mediante la aplicación de GAM independientemente para cada espécimen. De esta manera la geometría que representan dichos puntos se conoce mediante sus coordenadas que son los valores de los PCs (cuarenta en total) (véase Figura 5.1c).

Teniendo las coordenadas de cada landmark, la distancia de Procrustes se estima mediante la Distancia Euclídea. Como lo que nos interesa es encontrar puntos de cambios geométricos abruptos a lo largo de la región precloacal, se halla la distancia geométrica entre un landmark de configuración y su anterior. Dicha distancia es igual o aumenta al incrementar la dimensionalidad del morfoespacio, por lo tanto los cálculos de las distancias son acumulados e incluyen la totalidad de las dimensiones del morfoespacio hallado. Dicho procedimiento da más peso al estudio, ya que tiene en cuenta toda la variación de la muestra y no sólo una gran parte de ella. El caso nos permite trabajar en todas las dimensiones, pues no se pretende realizar una interpretación física sino sólo una evaluación de la “cantidad geométrica” que separa las vértebras (representadas por los cincuenta puntos equidistantes) consecutivas.

Resultados

1. El patrón general de las víboras

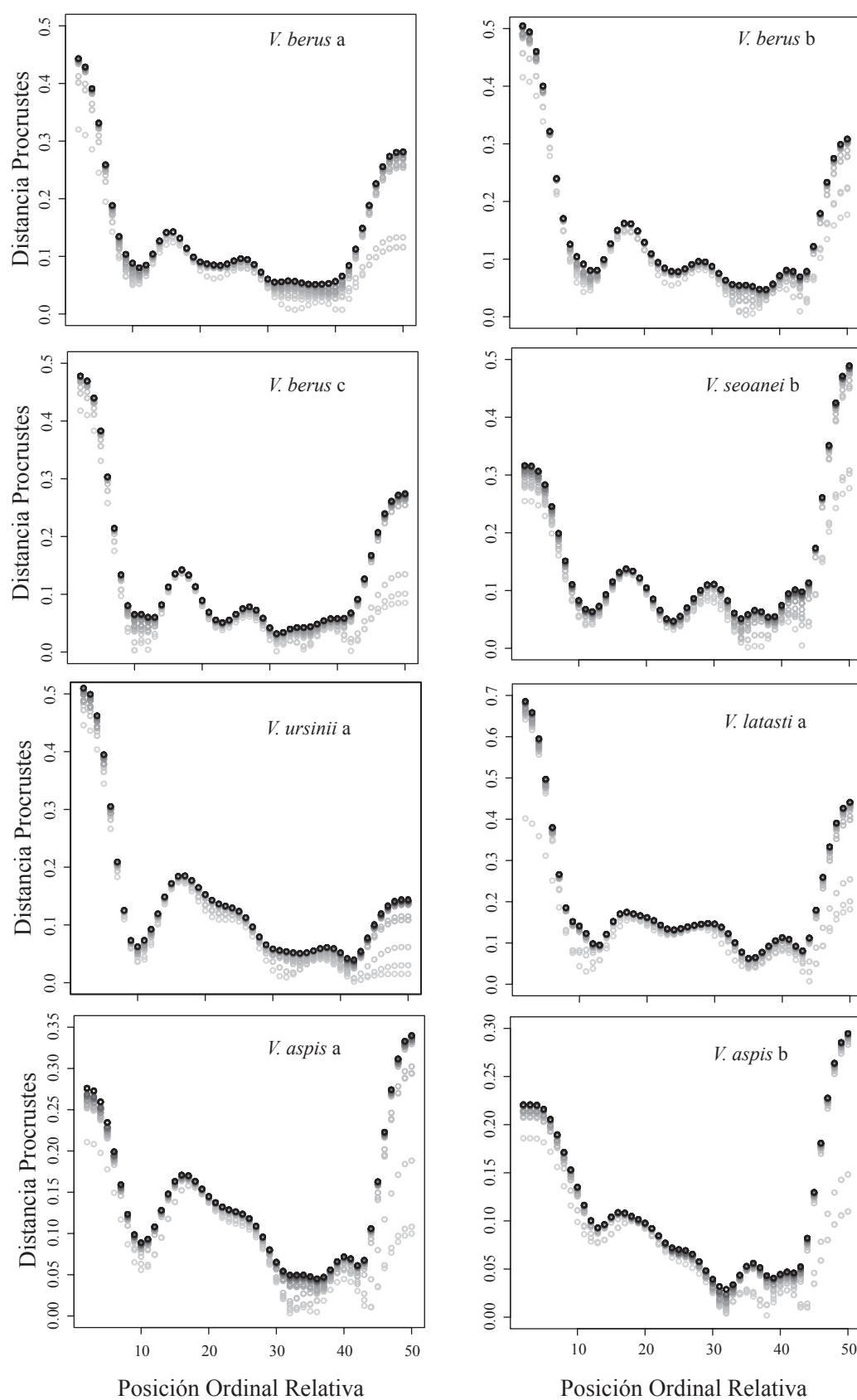
Los resultados de los análisis se pueden ver en la figura 6.1. A partir de los gráficos que incluyen todas las dimensiones se pueden discernir patrones comunes entre todos los individuos.

En primer lugar se observa una disminución abrupta de la distancia intervertebral que tiene lugar hasta el décimo punto de la región precloacal aproximadamente. Por otro lado, en lo que se refiere a la parte posterior de esta región, dichas distancias empiezan a aumentarse abruptamente entre los puntos cuarenta y cuarenta y cinco hasta la cloaca.

El otro punto común de los patrones (excepto los individuos pertenecientes a *D. russelli*) es la localización de la máxima distancia de Procrustes entre dos puntos consecutivos a lo largo de la región precloacal. Así, aparte de los valores de distancia geométrica más altos que se encuentran en los extremos de la región, la máxima distancia Procrustes se halla entre el punto quince y veinte en todas las víboras.

2. Diferenciación entre grupos

Aunque generalmente los individuos comparten un patrón común, hay variaciones cuantitativas de él entre los distintos grupos. Así que, se puede observar que *V. ursinii* destaca por su máxima distancia y por bajos valores de distancias en la serie posterior. Este último es el caso se produce también en *V. palaestinae*. Por otro lado, tanto *V. latastei* como *V. seoanei* presentan bajos valores para las máximas distancias de Procrustes.



(continúa en la siguiente página)



(continuación de la página anterior)

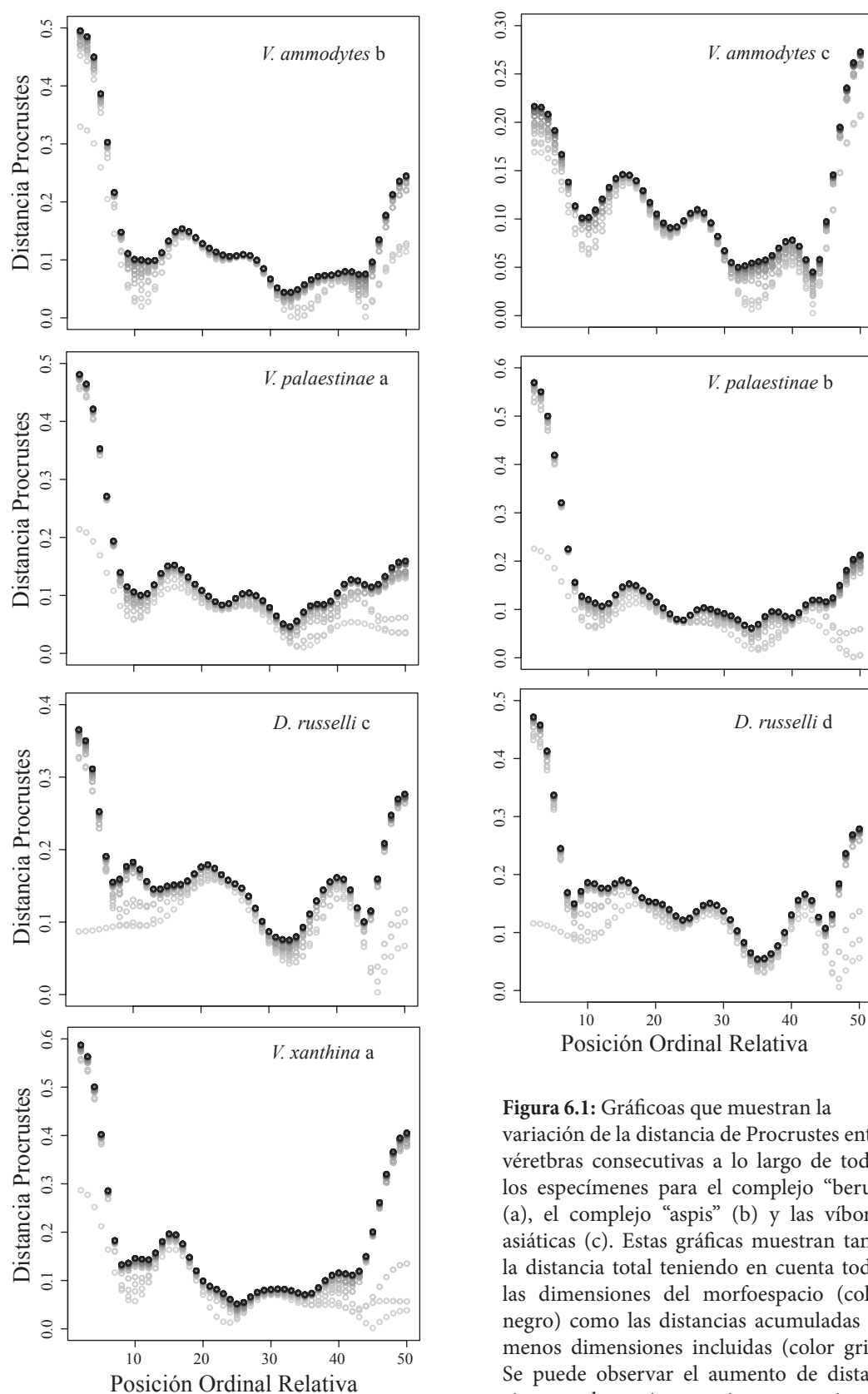


Figura 6.1: Gráficos que muestran la variación de la distancia de Procrustes entre vértebras consecutivas a lo largo de todos los especímenes para el complejo “berus” (a), el complejo “aspis” (b) y las víboras asiáticas (c). Estas gráficas muestran tanto la distancia total teniendo en cuenta todas las dimensiones del morfoespacio (color negro) como las distancias acumuladas de menos dimensiones incluidas (color gris). Se puede observar el aumento de distancias para las series anterior y posterior de la región y un aumento localizado antes del centro de la serie.



A nivel de complejos, se puede destacar la baja variación que presentan las distancias Procrustes en el caso de las asiáticas y en especial de las orientales. Además, como ya se ha mencionado, el hecho de que los especímenes del género *Daboia* carecen de punto de inflexión importante a lo largo de la parte central del esqueleto.

Discusión

La falta de regionalización de la región precloacal, modificación acoplada con la pérdida de extremidades, ha generado un debate acerca de la posibilidad de dividir esta región. En este debate entran argumentos genéticos, morfológicos y musculares. La meta de este capítulo es contribuir a este debate desde una perspectiva de la morfología cuantitativa.

Nuestra propuesta se basa en las relaciones entre elementos, es decir en la variación cuantitativa contada mediante las distancias de Procrustes entre vértebras consecutivas. Nuestro análisis hace patente el vínculo entre cambios geométricos abruptos y cambios cualitativos establecidos como es el caso de las series extremas de la región precloacal. Este resultado nos da pie a proponer los cambios abruptos de geometría vertebral como señales de subregionalización.

1. El debate acerca de la falta de regionalización en los ofidios

A. La identidad de las vértebras

La homogenización de la región precloacal ha provocado la curiosidad de los científicos en dos niveles principalmente. Por un lado, se encuentran hipótesis acerca de la manera que surgió. Dos hipótesis se han propuesto, a saber, la de la “cervicalización” y la de la “toracicación” del esqueleto respectivamente. Por otro lado, se centran en determinar las partes cervical y troncal en el esqueleto. Ambos campos de investigación están vinculados con la definición de la vértebra cervical (o troncal).

Según la definición tradicional de las vértebras cervicales que se hace con referencia a la cintura pectoral (Hoffstetter y Gasc, 1969), la falta de esta última en los ofidios hace imposible su determinación. La perspectiva genética otorga a los genes *Hox* la causa primaria al caracterizar el tipo de vértebra formada en cada posición, pero sin embargo en el caso de las serpientes los dominios de su expresión solapan teniendo como consecuencia la disolución de sus fronteras (Cohn y Tickle, 1999). Desde un punto de vista histológico Tsuihiji *et al.* (2006) determinan la frontera entre la parte cervical y la parte troncal haciendo referencia a la histología axial. Según estos autores el músculo de las serpientes *m. cervicoquadratus* se considera el homólogo del *m. episternocleidomastoideus* de los no ofidios que se inserta en la cintura



pectoral. Considerándose por estos autores como un musculo conservador, podría marcar la posición de la cintura pectoral perdida.

Mientras que todas estas definiciones hacen uso de estructuras externas de las vértebras, Lee y Caldwell (1998) afirman que para la definición de las regiones se deben utilizar caracteres intrínsecos de las vértebras y en particular optan por el uso de la variación de la hipapófisis (Caldwell, 2000). Szyndlar y Schleich (1993) utilizan las dimensiones de la vértebra para identificar la posición de los fósiles (cervical o troncal).

B. El proceso evolutivo de homogeneización

En lo que se refiere a los procesos que han causado dicha homogenización, Cohn y Tickle (1999), basándose en los dominios de expresión de los genes *Hox*, defienden la “toracicación” de la región precloacal, es decir que la homogenización de la morfología vertebral es una consecuencia de la adquisición gradual de cada vez más caracteres troncales (como por ejemplo el hecho de que incluso las vértebras anteriores llevan costillas). Sin embargo, dichos autores reconocen que por otro lado dichos caracteres troncales están mezclados con otros exclusivamente cervicales (como las hipapófisis). El proceso contrario, es decir la “cervicalización” de la morfología vertebral de la región precloacal, se propone por Caldwell (2000). Dicha hipótesis se basa en el estudio del fósil *Dolichosaurus longicollis*, que presenta la región cervical más larga entre los escamosos no ofidios. La relevancia de este hallazgo según Caldwell es su similitud paleobiológica con los ofidios.

2. La contribución cuantitativa al debate de la regionalización

A. Relación entre variación geométrica y regionalización

Según la primera ley de la dialéctica, el cambio cuantitativo puede dar lugar a saltos cualitativos. En los procesos socio-históricos eventos de agitación preceden los cambios abruptos. Por ejemplo, siguiendo las ideas de Kuhn, las revoluciones científicas siguen un periodo caracterizado por anomalías metodológicas. El mismo fenómeno, en otro orden de cosas, se puede apreciar también en nuestros resultados.

Lo que podemos observar es el hecho de que la máxima distancia geométrica entre vértebras consecutivas tiene lugar en los dos extremos de la región precloacal. En concreto, esta distancia aumenta rápidamente en estos extremos. Este incremento abrupto de la variación cuantitativa se ve en la vecindad de puntos que marcan cambios cualitativos en la morfología del esqueleto axial (anteriormente atlas-axis y posteriormente cloaca).



Este hecho hace patente el vínculo que hay entre cambios cualitativos en forma de regiones y cambios cuantitativos relacionados con aumentos abruptos de la distancia geométrica entre vértebras consecutivas.

B. La subdivisión cuantitativa de la región precloacal

La relación entre distancia de Procrustes y regionalización nos da pie para explorar cambios abruptos de geometría vertebral entre vértebras sucesivas traducidos en máximos locales de distancias de Procrustes. Nuestro análisis hizo patente la presencia de tales puntos a lo largo de la región precloacal para todas las víboras menos las del género *Daboia*. La posición relativa del punto de inflexión en la anatomía vertebral varía muy poco y siempre se encuentra entre el punto 15 y 20.

Así que aparte de las series extremas de la región precloacal se encuentra (si lo hay) solamente esta posición con aumento abrupto de la distancia geométrica. Este punto podría señalar la presencia de un umbral de subregionalización de la región precloacal. Hay que destacar que dicha conclusión no se basa en la geometría de elementos aislados sino en la relación entre elementos de la serie. Sin embargo, debemos de repetir que la ausencia de cambios cualitativos a lo largo de dicha región descarta su división clara. Teniendo esto en cuenta, se puede hablar de la parte cervical sin implicar su relación necesaria de homología biológica con la cervical del resto de los reptiles o los vertebrados.

Partiendo de la premisa que este punto de inflexión indica de alguna manera una subregionalización de la región precloacal y además que el grado de esta última es proporcional al valor de la máxima distancia local obtenida, entonces tiene lugar un incremento de la homogenización de la región precloacal de las europeas respecto a las asiáticas. En estas últimas el proceso consigue su forma más extrema en el caso de *Daboia* donde este umbral es muy difuso. Como además este último es el grupo más derivado de los de la muestra analizada (Groombridge, 1980; Nilson y Andrén, 1986), nuestros resultados refuerzan la teoría de homogenización gradual (“torácica”) incluso entre grupos tan similares aparentemente como las víboras. Una conclusión que se sostendría difícilmente sin el uso de un análisis morfométrico detallado.

Síntesis: propuesta de un modelo de variación en víboras eurasiáticas

La muestra que se ha utilizado para este estudio ha sido suficiente para probar un nuevo protocolo que se ha centrado en el análisis de las trayectorias de los patrones vertebrales. Es evidente que esta muestra puede ser notablemente mejorada, pues hemos infravalorado, uno de los componentes de variación que parece ser relevante en la muestra, el intraespecífico. Es bien sabido que las serpientes adultas tienen un amplio rango de tallas corporales incluso dentro de la misma población, asociado a metabolismo ectotérmico. Como se ha visto el rango de variación de los individuos con más de un ejemplar es amplio. Sin embargo, esta variación siempre se ha mantenido dentro del rango de los complejos analizados, aunque en alguna especie de víbora como *V. latastei*, los resultados no están muy en consonancia con el complejo al que pertenece.

En términos generales la información que hemos obtenido del análisis de esqueleto post-craneal, de la región precloacal, es congruente con las clasificaciones fenéticas y filogenéticas del grupo de víboras eurasiáticas. El grupo de las víboras eurasiáticas forma un grupo monofilético según estudios moleculares con un origen estimado en torno a 30 millones de años. Fenéticamente, las distancias entre las formas europeas siempre resultan menores entre sí, que cualquiera de ellas con las especies orientales, y en especial con *Daboia* (Figura 4.8).

El registro fósil del conjunto de víboras eurasiáticas, resulta también congruente con la asunción de que *Daboia* puede ser tratada como uno de los taxones con rasgos más derivados dentro del conjunto. El registro más temprano del complejo de víboras orientales corresponde al Mioceno temprano (MN4) de Lisboa. Desde MN4 al MN16 este complejo tiene una amplia distribución en el sur de Europa y centro.

Uno de los resultados más relevantes que se ha obtenido es que las diferencias interspecíficas tienen un componente fuertemente vinculado con el tamaño. El número de vértebras y sus correspondientes tasas de crecimiento afecta al tamaño corporal. La influencia del tamaño en la evolución del grupo puede ser asociada a un fenómeno de heterocronía. No obstante, no



se trata de exclusivamente de un fenómeno de hipermorfosis. Si consideramos a *Daboia* como la forma más derivada de acuerdo con Groombridge (1980) y a las europeas como las formas basales, en las víboras asiáticas y en concreto en *Daboia* tiene lugar una aceleración diferencial en las tasas de crecimiento (Figura 3.2a), pues estas tasas son menores en los extremos de la región precloacal, mientras que pronunciadas en la zona central. Estas altas tasas de crecimiento tienen repercusión en la geometría vertebral de las víboras asiáticas.

Las vértebras de las víboras asiáticas muestran geometrías parecidas a las vértebras anteriores de las europeas (Figura 4.6a). Es decir vértebras cortas y estiradas dorsoventralmente. Dicha restricción se puede apreciar en la Figura 4.9a donde hay un umbral a lo largo del PC1 que se no se sobrepasa en las víboras asiáticas a diferencia de las víboras europeas. Por lo tanto, esta limitación a lo largo de la dimensión que explica la mayoría de la variación intracolumnar (Figura 4.2) se traduce en una homogeneización de la geometría vertebral en las asiáticas. Por lo que el rango de valores a lo largo de esta variable geométrica es mucho más amplio en el caso de las europeas. Esta homogeneización agrava la posibilidad de establecer subregiones morfológicas en región precloacal, más en el caso de *Daboia*, donde apenas producen cambios geométricos (Figura 6.1).

Se puede concluir por consiguiente que una alta tasa de crecimiento vertebral tiene como consecuencia un mayor grado de homogeneización de la geometría de las vértebras precloacales. De modo que en las víboras asiáticas las vértebras no llegan a alcanzar una morfología tan alargada como las europeas en la serie posterior. Esto podría tener un efecto biomecánico, donde las vértebras grandes y al mismo tiempo alargadas serían menos funcionales para la locomoción (Gasc, 1976).

El número de vértebras precloacales también guarda relación con el tamaño vertebral. Sin embargo, esta relación no guarda un patrón lineal, sino que se hace más patente en el caso de las asiáticas (Figura 3.4). Es relevante que el complejo de víboras asiáticas tenga un mayor número de vértebras, tamaños vertebrales mayores y una tasa mayor de diferenciación de vertebral (Figura 3.6). Sin embargo dicha tasa obtiene sus valores máximos alrededor de la mitad de la región y está relacionada con una variación geométrica explicada por el PC3 (Figura 4.9e). Esta relación entre tamaño vertebral y número de vértebras tendría que considerarse igualmente al explicar el fenómeno de heterocronía descrito.

El patrón seriado de la geometría vertebral en las víboras se explica principalmente por un gradiente descrito por el PC1 a lo largo de la región precloacal. Sin embargo, tanto la serie anterior como la serie posterior, además, quedan representadas por el PC2 y PC4 respectivamente. No obstante, al realizar el análisis comparativo de las trayectorias se ve la interdependencia de cada una de estas partes identificadas previamente por los PCs. Esto es una consecuencia lógica del hecho de que los metaPCs más influyentes, es decir los dos primeros (Figura 5.2), explican cambios simultáneos para distintas partes de la región precloacal (Figura 5.6a y b). En concreto



se puede apreciar la vinculación entre la variación de la serie anterior y la posterior, donde la cantidad de cambios entre las dos está negativamente relacionada.

De esta manera basándonos en los resultados de las trayectorias podríamos caracterizar dos modelos: el del complejo de víboras europeas y el complejo de víboras asiáticas (Figura 5.5). El primer modelo se caracterizaría por una variación geométrica mayor en la serie posterior, un patrón poco homogéneo con cambios vinculados a determinadas posiciones. Mientras que el modelo asiático se caracterizaría por una mayor cantidad de cambio hacia la mitad de la región precloacal, y patrón homogéneo con variaciones monótonas.

El análisis de las trayectorias refuerza los resultados obtenidos en la regionalización y en la geometría, mostrando que la metodología es consistente. Por su carácter más global es capaz de sintetizar permitiendo elaborar hipótesis generales o modelos de cambio.



Conclusiones

- El patrón seriado del tamaño vertebral a lo largo de la región precloacal es similar entre las víboras y se caracteriza por una campana gaussiana cuyos valores máximos se encuentran aproximadamente en el 40% de la región y sus valores mínimos se obtienen en los extremos. Las diferencias en este patrón entre especies se deben exclusivamente al número de vértebras.
- El aumento del número de vértebras no es el mecanismo principal que conduce al alargamiento de las víboras. Cuando tiene lugar dicha relación, es decir solamente en el caso de las víboras asiáticas, el número vertebral afecta principalmente la tasa de crecimiento de las vértebras, hecho que a su vez lleva a cuerpos más largos.
- Las víboras asiáticas y europeas se relacionan evolutivamente mediante un fenómeno heterocrónico de aceleración.
- Las vértebras de las víboras asiáticas muestran restricciones construccionales ya que no pueden obtener geometrías alargadas como las posteriores en las europeas. Este fenómeno disminuye el rango de geometrías en la región precloacal de las asiáticas.
- Los distintos complejos de víboras se diferencian no solamente por su geometría vertebral sino también por el patrón seriado que esta sigue intracolumnarmente.
- El patrón seriado de la región precloacal funciona como un todo. Pues, variaciones en la parte anterior de la serie están vinculadas con variaciones de la serie posterior.
- Dos modelos de patrón seriado se han observado: el europeo y el asiático. El último se caracteriza por un patrón seriado monótono a lo largo de la columna generando un todo más homogéneo. Por otro lado, el modelo europeo sigue un patrón seriado que varía a lo largo de la columna.
- La regionalización en la columna vertebral de las víboras está vinculada con cambios geométricos adyacentes abruptos. Los cambios menos pronunciados se localizan entre el 30 y 40% de la longitud precloacal en todas las víboras menos *Daboia*. Esto podría ser una manera adecuada de señalar posiciones al subdividir la región precloacal.
- La aproximación holista para la comparativa entre estructuras seriadas es consistente con los resultados de los métodos ya establecidos y además presenta resultados mucho más globales, sintetizando los resultados parciales de los demás.

Capítulo VIII

Bibliografía

Adams, D.C. y Cerney, M.M. 2007. Quantifying biomechanical motion using Procrustes motion analysis. *Journal of Biomechanics* 40: 437-444.

Adams, D.C. y Collyer, M.L. 2007. Analysis of character divergence along environmental gradients and other covariates. *Evolution* 61: 510-515.

Adams, D.C. y Collyer, M.L. 2009. A general framework for the analysis of phenotypic trajectories in evolutionary studies. *Evolution* 63: 1143-1154.

Adams, D.C., Rohlf, F.J. y Slice, D.E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. *Italian Journal of Zoology* 71: 5-16.

Alberch, P., Gould, S.J., Oster, G.F. y Wake, D.B. 1979. Size and shape in ontogeny and phylogeny. *Paleobiology* 5: 296-317.

Auffenberg, W. 1962. A review of the trunk musculature in the limbless land vertebrates. *American Zoologist* 2: 183-190.

Augé, M. y Rage, J.-C. 2000. Les squamates (Reptilia) du Miocène moyen de Sansan. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle* 183: 263-313.



Bachmayer, F. y Szyndlar, Z. 1985. Ophidians (Reptilia: Serpentes) from the Kohfidisch fissures of Burgenland, Austria. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien* 87: 79-100.

Bachmayer, F. y Szyndlar, Z. 1987. A second contribution to the ophidian fauna (Reptilia: Serpentes) of Kohfidisch, Austria. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien* 88: 25-39.

Bailon, S. 1986. Los anfibios y los reptiles del yacimiento de Cueva Hora (Darro, Granada). *Antropología y Paleoecología Humana* 4: 131-155.

Bateson, W. 1892. On numerical variation in teeth, with a discussion of the conception of homology. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1892: 102-115.

Bock, W.J. 1973. Philosophical foundations of classical evolutionary classification. *Systematic Zoology* 22: 375-392.

Bookstein, F.D. 1991. *Mathematic tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press.

Brattstrom, B.H. 1964. Evolution of the pit vipers. *Transactions of the San Diego Society of Natural History* 13: 185-268.

Buscalioni, A.D., de la Iglesia, A., Delgado-Buscalioni, R. y Dejoan, A. 2005. Modularity and the boundary between art and science. En: W. Callebaut y D. Rasskin-Gutman (Eds) *Modularity: understanding the development and evolution of natural complex systems*. MIT Press. pp. 283-304.

Butler, P.M. 1939. Studies of the mammalian dentition. Differentiation of the post-canine dentition. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1939: 1-36.



Caldwell, M.W. 2000. On the aquatic squamate *Dolichosaurus longicollis* OWEN, 1850 (Cenomanian, Upper Cretaceous), and the evolution of elongate necks in squamates. *Journal of Vertebrate Paleontology* 20: 720-735.

Caldwell, M.W. y Lee, M.S.Y. 1997. A snake with legs from the marine Cretaceous of the Middle East. *Nature* 386: 705-709.

Carroll, R.L. 1988. *Vertebrate paleontology and evolution*. W.H. Freeman and Company, New York.

Chapman, R.E. 1990. Conventional Procrustes approaches. En: F.J. Rohlf y F.L. Bookstein (Eds) *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop*. The University of Michigan, Museum of Zoology, Ann Harbor. pp. 251-267.

Chen, X., Milne, N. y O'Higgins, P. 2005. Morphological variation of the thoracolumbar vertebrae in *Macropodidae* and its functional relevance. *Journal of Morphology* 226: 167-181.

Cohn, M.J. y Tickle, C. 1999. Developmental basis of limblessness and axial patterning in snakes. *Nature* 399: 474-479.

Collyer, M.L. y Adams, D.C. 2007. Analysis of two-state multivariate phenotypic change in ecological studies. *Ecology* 88: 683-692.

Cox, T.F. y Cox, M.A.A. 2001. *Multidimensional Scaling*, 2nd Edition. Chapman & Hall/CRC, Boca Raton.

Cundall, D. 1995. Feeding behavior in *Cylindrophis* and its bearing on the evolution of alethinophidian snakes. *Journal of Zoology* 237: 353-376.



Delfino, M. 2004. The middle Pleistocene herpetofauna of Valdemino cave (Liguria, North-Western Italy). *Herpetological Journal* 14: 113-128.

Dequéant, M.-L. y Pourquié, O. 2008. Segmental patterning of the vertebrate embryonic axis. *Nature Reviews Genetics* 9: 370-382.

Di-Poï, N., Montoya-Burgos, J.I., Miller, H., Pourquié, O., Milinkovitch, M.C. y Duboule, D. 2010. Changes in Hox genes' structure and function during the evolution of the squamate body plan. *Nature* 464: 99-103.

Diaconis, P., Goel, S. y Holmes, S. 2008. Horseshoes in multidimensional scaling and local Kernel methods. *The Annals of Applied Statistics* 2: 777-807.

Dryden, I.L. 2012. *shapes package*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Contributed package. URL <http://www.R-project.org>

Dryden, I.L. y Mardia, K.V. 1997. *Statistical Shape Analysis*. John Wiley & Sons, New York.

Engels, F. 1979. *Dialéctica de la naturaleza*. Crítica, Barcelona.

Filler, A. 1986. *Axial carácter seriation in mammals: an historical and morphological exploration of the origin, development, use, and current collapse of the homology paradigm*. PhD Thesis, Department of Anthropology, Harvard University, Massachusetts.

Gans, C. 1962. Terrestrial locomotion without limbs. *American Zoologist* 2: 167-182.

Gans, C. 1975. Tetrapod limblessness: evolution and functional corollaries. *American Zoologist* 15: 455-467.



Gasc, J.P. 1976. Snake vertebrae – a mechanism or merely a taxonomist’s toy? En: A.d’A. Bellairs y B. Cox (Eds.) *Morphology and Biology of Reptiles*. Linnean Society Symposium Series 3: 177-190.

Ghiselin, M.T. 1976. The nomenclature of correspondence: a new look at “homology” and “analogy”. En: R.B. Masterton, W. Hodos, H. Jerison (eds) *Evolution, brain and behaviour: persistent problems*. Lawrence Erlbaum Associates, New Jersey.

Gilbert, S.F. 2003. *Developmental Biology*, 7th Edition. Sinauer Associates Inc., Sunderland.

Gilbert, S.F., Opitz, J.M. y Raff, R.A. 1996. Resynthesizing evolutionary and developmental biology. *Developmental Biology* 173: 357-372.

Goethe, J.W. von 2007. La metamorphosis de las plantas. En: D. Sánchez Meca (ed.) *La teoría de la naturaleza 2ª edición*. Tecnos, Madrid.

Gomez, C., Özbudak, E.M., Wunderlich, J., Baumann, D., Lewis, J. y Pourquié, O. 2008. Control of segment number in vertebrate embryos. *Nature* 454: 335-339.

Goodrich, E.S. 1913. Metamerism segmentation and homology. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 59: 229-248.

Gould, S.J. y Eldredge, N. 1977. Punctuated equilibria: the tempo and mode of evolution reconsidered. *Paleobiology* 3: 115-151.

Gower, J.C. 1975. Generalized Procrustes analysis. *Psychometrika* 40: 33-51.

Gray, J. 1946. The mechanism of locomotion in snakes. *Journal of Experimental Biology* 23: 101-120.



Greene, H.W. 1997. *Snakes: the evolution of mystery in nature*. University of California Press.

Groombridge, B.C. 1980. A phyletic analysis of viperine snakes. Unpublished Ph. D. Thesis, City of London Polytechnic/British Museum (Natural History).

Guisan, A., Edwards, T.C.Jr. y Hastie, T. 2002. Generalized linear and generalized additive models in studies of species distributions: setting the scene. *Ecological Modelling* 157: 89-100.

Hall, B.K. 1995. Homology and embryonic development. *Evolutionary Biology* 28:1-37.

Hastie, T.J. y Tibshirani, R.J. 1990. *Generalized Additive Models*. Chapman & Hall/CRC, Boca Raton.

Head, J.J. y Polly, P.D. 2007. Dissociation of somatic growth from segmentation drives gigantism in snakes. *Biology Letters* 3: 296-298.

Herrmann, H.-W., Joger, U. y Nilson, G. 1992. Phylogeny and systematics of viperine snakes. III: resurrection of the genus *Macrovipera* (Reuss, 1927) as suggested by biochemical evidence. *Amphibia-Reptilia* 13: 375-392.

Hoffstetter, R. y Gasc, J.-P. 1969. Vertebrae and limbs of modern reptiles. En: C. Gans, A.d'A. Bellairs y T.S. Parsons (Eds) *Biology of the reptilia, Volume 1, Morphology A*. Academic Press, London. pp. 201-310.

Ivanov, M. 2000. Snakes from the lower/middle Miocene transition at Vieux Collonges (Rhône, France), with comments on the colonization of western Europe by colubroids. *Geodiversitas* 22: 559-588.



Johnson, R.G. 1955. The adaptive and phylogenetic significance of vertebral form in snakes. *Evolution* 9: 367-388.

Johnson, D.R., O'Higgins, P. y McAndrew, T.J. 1989. The effect of undulated (*un*) on the shape of cervical and upper thoracic vertebrae in the house mouse (*Mus musculus*). *Journal of Anatomy* 163: 49-55.

Johnson, D.R., O'Higgins, P., McAndrew, T.J. y Kida, M.Y. 1992. The inheritance of vertebral shape in the mouse. I. A study using Fourier analysis to examine patterns of inheritance in the morphology of cervical and upper thoracic vertebrae. *Journal of Anatomy* 180: 507-514.

Kardong, K.V. 2009. *Vertebrates: Comparative Anatomy, Function, Evolution* 5th Edition. MacGraw Hill, New York.

Kelly, C.M.R., Barker, N.P. y Villet, M.H. 2003. Phylogenetics of advanced snakes (Caenophidia) based on four mitochondrial genes. *Systematic Biology* 52: 439-459.

Kendall, D.G. 1971. Seriation from abundance matrices. En: F.R. Hodson, D.G. Kendall y P. Tautu (Eds) *Mathematics in the archaeological and historical sciences*. Edinburgh University Press, Edinburgh. pp. 215-252.

Kendall, D.G. 1984. Shape manifolds, procrustean metrics, and complex projective spaces. *Bulletin of London Mathematical Society* 16: 81-121.

Kendall, D.G. 1989. A survey of the statistical theory of shape. *Statistical Science* 4: 87-120.

Kmita, M. y Duboule, D. 2003. Organizing axes in time and space; 25 years of collinear tinkering. *Science* 301: 331-333.



Kuhn, T. 2006. *La estructura de las revoluciones científicas*. Fondo de Cultura Económica, Madrid.

Lande, R. 1978. Evolutionary mechanisms of limb loss in tetrapods. *Evolution* 32: 73-92.

Lattin, J.M., Carroll, J.D. y Green, P.E. 2003. *Analyzing Multivariate Data*. Thomson Brooks/Cole, Pacific Grove.

Lawson, R., Slowinski, J.B., Crother, B.I. y Burbrink, F.T. 2005. Phylogeny of the Colubroidea (Serpentes): new evidence from mitochondrial and nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 581-601.

Lee, M.S.Y. y Caldwell, M.W. 1998. Anatomy and relationships of *Pachyrhachis problematicus*, a primitive snake with hindlimbs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* 353: 1521-1552.

Lee, M.S.Y. y Caldwell, M.W. 2000. *Adriosaurus* and the affinities of mosasaurs, dolichosaurs, and snakes. *Journal of Paleontology* 74: 915-937.

Lee, M.S.Y. y Scanlon, J.D. 2002a. The Cretaceous marine squamate *Mesoleptos* and the origin of snakes. *Bulletin of the Natural History Museum, London (Zoology)* 68: 131-142.

Lee, M.S.Y. y Scanlon, J.D. 2002b. Snake phylogeny based on osteology, soft anatomy and ecology. *Biological Reviews* 77: 333-401.

Lee, M.S.Y., Caldwell, M.W. y Scanlon, J.D. 1999. A second primitive marine snake: *Pachyophis woodwardi* from the Cretaceous of Bosnia-Herzegovina. *Journal of Zoology, London* 248: 509-520.



Leeuw, J. de 2007. A horseshoe for multidimensional scaling. *Department of Statistics Papers* (University of California, Los Angeles) Disponible en: <http://repositories.cdlib.org/uclastat/papers/2007010122>

Lenoir, T. 1987. The eternal laws of form: morphotypes and the conditions of existence in Goethe's biological thought. En: F. Amrine, F.J. Zucker y H. Wheeler (eds.) *Goethe and the sciences: a re-appraisal*. Springer. pp. 17-28.

Lindell, L.E. 1994. The evolution of vertebral number and body size in snakes. *Functional Ecology* 8: 708-719.

Lindell, L.E. 1996. Vertebral number in adders, *Vipera berus*: direct and indirect effects on growth. *Biological Journal of the Linnean Society* 59: 69-85.

Lindsey, C.C. 1975. Pleomerism, the widespread tendency among related fish species for vertebral number to be correlated with maximum body length. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 32: 2453-2469.

Malnate, E.V. 1972. Observations on the vertebral hypapophyses with associated musculature in some snakes, with special reference to the Colubridae. *Zoologische Mededelingen* 47: 225-239.

Marugán-Lobón, J. y Buscalioni, A.D. 2004. Geometric morphometrics in macroevolution: morphological diversity of the skull in modern avian forma in contrast to some theropod dinosaurs. En: A. Eleewa (Ed) *Morphometrics in Paleontology and Biology*. Springer, Heidelberg. pp. 157-173.

Minelli, A. 1998. Molecules, developmental modules, and phenotypes: a combinatorial approach to homology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9:340-347.



Muggeo, V.M.R. 2003. Estimating regression models with unknown break-points. *Statistics in Medicine* 22: 3055-3071.

Mosauer, W. 1935. The myology of the trunk region of snakes and its significance for ophidian taxonomy and phylogeny. *Publications of the University of California at Los Angeles in Biological Sciences* 1: 81-120.

Müller, J., Scheyer, T.M., Head, J.J., Barrett, P.M., Werneburg, I., Ericson, P.G.P., Pol, D. y Sánchez-Villagra, M.R. 2010. Homeotic effects, somitogenesis and the evolution of vertebral numbers in recent and fossil amniotes. *PNAS* 107: 2118-2123.

Nilson, G. y Andrén, C. 1986. The mountain vipers of the Middle East – The *Vipera xanthina* complex (Reptilia, Viperidae). *Bonner Zoologische Monographien* 20: 1-90.

Nilson G. y Andrén, C. 1997. Evolution, systematics and biogeography of Palaearctic vipers. En: R.S. Thorpe, W. Wüster y A. Malhotra (Eds) *Venomous Snakes: Ecology, Evolution and Snakebite*. Clarendon Press, Oxford. pp. 31-42.

Nowicki, J.L. y Burke, A.C. 2000. *Hox* genes and morphological identity: axial versus lateral patterning in the vertebrate mesoderm. *Development* 127: 4265-4275.

Nuño de la Rosa, L. 2005. *Historia filosófica de la idea de forma orgánica: del hilemorfismo aristotélico a la microanatomía celular*. Universidad Complutense de Madrid.

O'Higgins, P. y Johnson, D.R. 1993. The inheritance of vertebral shape in the mouse II. A study using Fourier analysis to examine the inheritance of patterns of vertebral variation in the cervical and upper thoracic vertebral column. *Journal of Anatomy* 182: 65-73.

O'Higgins, P., Milne, N., Johnson, D.R., Runnion, C.K. y Oxnard, C.E. 1997. Adaptation in the vertebral column: a comparative study of patterns of metamerism variation in mice and men. *Journal of Anatomy* 190: 105-113.



O'Higgins, P., Cobb, S.N., Fitton, L., Gröning, F., Phillips, R., Liu, J. y Fagan, M.J. 2010. Combining geometric morphometrics and functional simulation: an emerging toolkit for virtual functional analyses. *Journal of Anatomy* 218: 3-15.

Obst, F.J. 1983. Zur Kenntnis der Schlangengattung *Vipera* (Reptilia, Serpentes, Viperidae). *Zoologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde in Dresden* 38: 229-235.

Owen, R. 1848. *On the archetype and homologies of the vertebrate skeleton*. Van Voorst.

Palci, A. y Caldwell, M.W. 2007. Vestigial forelimbs and axial elongation in a 95 million-year-old non-snake squamate. *Journal of Vertebrate Paleontology* 27: 1-7.

Panchen, A.L. 2001. Étienne Geoffroy St.-Hilaire: father of “evo-devo”? *Evolution & Development* 3: 41-46.

Patterson, C. 1982. Morphological characters and homology. En: K.A. Joysey, E. FA (Eds) *Problems of phylogenetic reconstruction*. Academic Press, London and New York. pp. 21-74.

Podani, J. y Miklós I. 2002. Resemblance coefficients and the horseshoe effect in principal coordinates analysis. *Ecology* 83: 3331-3343.

Polcyn, M.J., Jacobs, L.L. y Haber, A. 2005. A morphological model and CT assessment of the skull of *Pachyrhachis problematicus* (Squamata, Serpentes), a 98 million year old snake with legs from the Middle East. *Paleontologia Electronica* 8: 24p.

Polly, P.D. y Head, J.J. 2004. Maximum-likelihood identification of fossils: taxonomic identification of quaternary marmots (Rodentia, Mammalia) and identification of vertebral position in the pipesnake *Cylindrophis* (Serpentes, Reptilia). En: A.M.T. Elewa (Ed) *Morphometrics: Applications in Biology and Paleontology*. Springer. pp. 197-221.



Pregill, G.K. 1977. Axial myology of the racer *Coluber constrictor* with emphasis on the neck region. *Transactions of the San Diego Society of Natural History* 18: 185-206.

Raff, R.A. 1996. *The shape of life: genes, development, and the evolution of animal form*. The University of Chicago Press, Chicago.

R Development Core Team, 2008. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en: <http://www.R-project.org>.

Rage, J.-C. 1984. Serpentes. En: P. Wellnhofer (Ed) *Handbuch der Paläontologie*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Rage, J.-C. 1987. Fossil history. En: R.A. Seigel, J.T. Collins y S.S. Novak (Eds) *Snakes: Ecology and Evolutionary Biology*. Macmillan Publishing Company, New York. pp. 51-76.

Rage, J.-C. y Bailon, S. 2005. Amphibians and squamate reptiles from the late early Miocene (MN4) of Béon 1 (Montréal-du-Gers, southwestern France). *Geodiversitas* 27: 413-441.

Rage, J.-C. y Escuillié, F. 2000. Un nouveau serpent bipède du Cénomanién (Crétacé). Implications phylétiques. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Paris, Sciences de la Terre et des planètes* 330: 513-520.

Rasskin-Gutman, D. 1995. Modelos geométricos y topológicos en morfología: exploración de los límites del morfoespacio afín. Aplicaciones en Paleobiología. Tesis Doctoral, Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Madrid.

Richtsmeier, J.T. y Lele, S. 1993. A coordinate-free approach to the analysis of growth patterns: models and theoretical considerations. *Biological Reviews*: 381-411.



Reyment, R.A. 1991. *Multidimensional Paleobiology*. Pergamon Press, New York.

Richardson, M.K., Allen, S.P., Wright, G.M., Raynaud, A. y Hanken, J. 1998. Somite number and vertebrate evolution. *Development* 125: 151-160.

Rieppel, O. 2004. The language of systematics, and the philosophy of “total evidence”. *Systematics and Biodiversity* 2:9-19.

Rieppel, O. 2007. Homology: a philosophical and biological perspective. En: W. Henke, I. Tattersall (eds) *Handbook of Paleoanthropology: Principles, Methods and Approaches*. Springer-Verlag. pp. 217-240.

Rieppel, O. y Head, J.J. 2004. New specimens of the fossil snake genus *Eupodophis* Rage & Escuillié, from Cenomanian (Late Cretaceous) of Lebanon. *Memorie della Società Italiana di Scienze Naturali e del Museo Civico di Storia Naturale di Milano* 32: 3-26.

Rieppel, O. y Zaher, H. 2000. The intramandibular joint in squamates, and the phylogenetic relationships of the fossil snake *Pachyrhachis problematicus* Haas. *Fieldiana: Geology, N.S.* 43: 1-69.

Rieppel, O., Zaher, H., Tchernov, E. y Polcyn, M.J. 2003. The anatomy and relationships of *Haasiophis terrasanctus*, a fossil snake with well-developed hind limbs from the Mid-Cretaceous of the Middle East. *Journal of Paleontology* 77: 536-558.

Rohlf, F.J. 1999a. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification* 16: 197-223.

Rohlf, F.J. 1999b. On the use of shape spaces to compare morphometric methods. *Hystrix* 11: 9-25.



Rohlf, F.J. 2010. *TPSdig*, Version 2.15. Ecology and Evolution. SUNY at Stony Brooks, USA. Disponible en: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-dataacq.html>, 2010.

Rohlf, F.J. y Marcus, L.F. 1993. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution* 8: 129-132.

Rohlf, F.J. y Slice, D. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology* 39: 40-59.

Roth, V.L. 1991. Homology and hierarchies: problems solved and unresolved. *Journal of Evolutionary Biology* 4:167-194.

Rupke, N.A. 1993. Richard Owen's vertebrate archetype. *Isis* 84: 231-251.

Russell, E.S. 1982. *Form and function: a contribution to the history of animal morphology*. The University of Chicago Press.

Saint Girons, H. 1980. Biogéographie et évolution des vipères européennes. *Rendu des Séances de la Société de Biogéographie* 496: 146-172.

Sarris, I. y Chamero, B. 2009. Serial homology and the horseshoe effect. *Paleontologia I Evolucio*, memòria especial núm. 3: 111-112.

Sarris, I., Marugán-Lobón, J., Chamero, B. y Buscalioni, A.D. 2012. Shape variation and allometry in the precloacal vertebral series of the snake *Daboia russelli* (Viperidae). *International Journal of Morphology* 40: en prensa .

Siegel, A.F. y Benson, R.H. 1982. A robust comparison of biological shapes. *Biometrics* 38: 341-350.



Slice, D.E. 2005. Modern morphometrics. En: D.E. Slice (Ed) *Modern Morphometrics in Physical Anthropology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp. 1-45.

Slice, D.E. 2007. Geometric morphometrics. *Annual Review of Anthropology* 36: 261-281.

Slowinski, J.B. y Lawson, R. 2002. Snake phylogeny: evidence from nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 24: 194-202.

Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. 1995. *Biometry* 3rd Edition. Freeman and Company, New York.

Strauss, R.E. 2010. Prospectus: the future of morphometrics. En: A.M.T. Elewa (ed) *Morphometrics for nonmorphometricians*. Springer. pp. 345-352.

Szyndlar, Z. 1984. Fossil snakes from Poland. *Acta Zoologica Cracoviensia* 28: 1-156.

Szyndlar, Z. 1987. Snakes from the Lower Miocene locality of Dolnice (Czechoslovakia). *Journal of Vertebrate Paleontology* 7: 55-71.

Szyndlar, Z. 1991. A review of Neogene and Quaternary snakes of Central and Eastern Europe. Part II. Natricinae, Elapidae, Viperidae. *Estudios Geológicos* 47: 237-266.

Szyndlar, Z. 1998. Vertebrates from the Early Miocene lignite deposits of the opencast mine Oberdorf (Western Styrian Basin, Austria); 3. Reptilia 2: Serpentes. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien* 99A: 31-38.

Szyndlar, Z. 2005. Snake fauna from the Late Miocene of Rudabánya. *Palaeontographia Italica* 90: 31-52.



Szyndlar, Z. y Rage, J.-C. 1999. Oldest fossil vipers (Serpentes: Viperidae) from the Old World. *Kaupia, Darmstädter Beiträge zur Naturgeschichte* 8: 9-20.

Szyndlar, Z. y Rage, J.-C. 2002. Fossil record of the true vipers. En: G.W. Schuett, M. Högren, M.E. Douglas y H.W. Greene (Eds) *Biology of the vipers*. Eagle Mountain Publishing, Eagle Mountain. pp. 419-444.

Szyndlar, Z. y Schleich, H.H. 1993. Description of Miocene snakes from Petersbuch 2 with comments on the Lower and Middle Miocene ophidian faunas of southern Germany. *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde, Serie B (Geologie und Paläontologie)* 192: 1-47.

Thireau, M. 1967. Contribution a l'étude de la morphologie caudale, de l'anatomie vertébrale et costale des genres *Atheris*, *Atractaspis* et *Causus* (vipéridés de l'Ouest Africain). *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle* 39: 454-470.

Thomson, D'A.W. 1992. *On growth and form. The complete revised edition*. Dover Publications, Inc., Mineola.

Tsuihiji, T., Kearney, M. y Rieppel, O. 2006. First report of a pectoral girdle muscle in snakes, with comments on the snake snake cervico-dorsal boundary. *Copeia* 206-215.

Venczel, M. 1994. Late Miocene snakes from Polgárdi (Hungary). *Acta Zoologica Cracoviensis* 37: 1-29.

Venczel, M. 1997. Amphibians and reptiles from the Lower Pleistocene of Osztramos (Hungary). *Nymphaea, Folia Naturae Bihariae* 23-25: 77-88.

Venczel, M. 2001. Anurans and squamates from the Lower Pliocene (MN 14) Osztramos 1 locality (Northern Hungary). *Fragmenta Palaeontologica Hungarica* 19: 79-90.



Vidal, N. y Hedges, B. 2002. Higher-level relationships of caenophidian snakes inferred from four nuclear and mitochondrial genes. *Comptes Rendus Biologies* 325: 987-995.

Vonk, F.J. y Richardson, M.K. 2008. Developmental biology: Serpent clocks tick faster. *Nature* 454: 282-283.

Wagner, G.P. 1989. The biological homology concept. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20:51-69.

Wagner, G.P. 1996. Homologues, Natural Kinds and the Evolution of Modularity. *American Zoologist* 36:36-43.

Wagner, A.K., Soumerai, S.B., Zhang, F. y Ross-Degnan, D. 2002. Segmented regression analysis of interrupted time series studies in medication use research. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 27: 299-309.

Wake, M.H. 1980. Morphometrics of the skeleton of *Dermophis mexicanus* (Amphibia: Gymnophiona). Part I. The vertebrae, with comparisons to other species. *Journal of Morphology* 165: 117-130.

Wellik, D.M. 2007. Hox patterning of the vertebrate axial skeleton. *Developmental Dynamics* 236: 2454-2463.

Wiens, J.J. y Slingluff, J.L. 2001. How lizards turn into snakes: a phylogenetic analysis of body-form evolution in anguid lizards. *Evolution* 55: 2303-2318.

Woltering, J.M., Vonk, F.J., Müller, H., Bardine, N., Tduce, I.L., Bakker, M.A.G. de, Knöchel, W., Sirbu, I.O., Durston, A.J. y Richardson, M.K. 2009. Axial patterning in snakes and caecilians: evidence for an alternative interpretation of the *Hox* code. *Developmental Biology* 332: 82-89.



Wood, S. 2012. *mgcv package*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Contributed package. URL <http://www.R-project.org>

Zaher, H. y Rieppel, O. 1999. The phylogenetic relationships of *Pachyrhachis problematicus*, and the evolution of limblessness in snakes (Lepidosauria, Squamata). *Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Paris, Sciences de la Terre et des planètes* 329: 831-837.

Zaher, H. y Rieppel, O. 2002. On the phylogenetic relationships of the Cretaceous snakes with legs, with special reference to *Pachyrhachis problematicus* (Squamata, Serpentes). *Journal of Vertebrate Paleontology* 22: 104-109.

Zeeman, E.C. 1977. Catastrophe theory. *Scientific American* 1977: 65-83.

Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., Sheets, H.D. y Fink, W.L. 2004. *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. Elsevier Academic Press, New York.

Zerova, G.A. 1992. *Vipera (Daboia) ukrainica* – a new viper (Serpentes; Viperidae) from the Middle Sarmatian (Upper Miocene) of the Ukraine. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie - Abhandlungen* 184: 235-249.